

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS
MESTRADO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

THAMYRES MOURA LIMA

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À CORROSÃO E
CITOTOXICIDADE DE LIGAS Ti-35Nb-xTa SUBMETIDAS À
TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE

Orientadora: Prof^a. Dr^a Sandra Andreia Stewart de Araujo Souza
Co-orientadora: Prof^a. Dr^aMichelle Cardinale Souza Silva
Macedo

SÃO CRISTÓVÃO- SE - BRASIL
FEVEREIRO DE 2018

THAMYRES MOURA LIMA

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À CORROSÃO E CITOTOXICIDADE
DE LIGAS Ti-35Nb-xTa SUBMETIDAS À TRATAMENTOS DE
SUPERFÍCIE**

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Sergipe, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Sandra Andreia Stewart de Araujo Souza

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Michelle Cardinale Souza Silva Macedo

SÃO CRISTÓVÃO, SE - BRASIL

FEVEREIRO DE 2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

L732a Lima, Thamyres Moura
Avaliação da resistência à corrosão e citotoxicidade de liga Ti-35Nb-xTa submetidas à tratamentos de superfície / Thamyres Moura Lima ; orientadora Sandra Andreia Stewart de Araujo Souza. – São Cristóvão, 2018.
64 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais)– Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Engenharia de materiais. 2. Ligas de titânio. 3. Implantes artificiais. I. Souza, Sandra Andreia Stewart Araujo orient. II. Título.

CDU 620:19

"AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À CORROSÃO E
CITOTOXICIDADE DE
LIGAS Ti-35Nb-xTa SUBMETIDAS À TRATAMENTOS DE
SUPERFÍCIE".

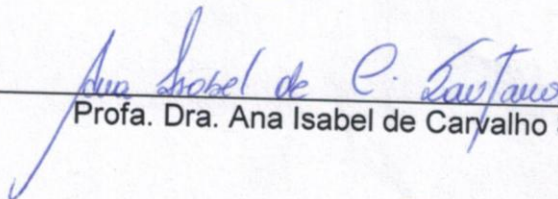
Thamyres Moura Lima

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS.

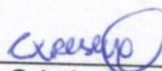
Aprovada por:



Profa. Dra. Sandra Andreia Stewart de Araujo Souza



Profa. Dra. Ana Isabel de Carvalho Santana



Profa. Dra. Cristiane Xavier Resende

SÃO CRISTÓVÃO, SE – BRASIL.

Fevereiro/2018

Aos meus pais Ruy e Guiomar e minha irmã Thâmara.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tornar tudo possível;

Aos meus pais pelo amor, dedicação e esforço que sempre fizeram para que a minha formação fosse prioridade, a minha irmã Thâmara pelo seu amor e companheirismo de sempre;

A minha orientadora, Sandra, que foi de fundamental importância para realização desse trabalho, pelos ensinamentos prestados, paciência e dedicação.

A minha co-orientadora, Michelle, pela dedicação de sempre, sem medir esforços, por suas palavras de incentivo e de correção sempre nos momentos certos; sua participação foi fundamental para que este trabalho fosse concretizado assim como para minha evolução acadêmica.

A professora Cristiane Xavier Resende, que contribui com a análise dos ensaios de citotoxicidade e sempre esteve disponível para quaisquer esclarecimento;

A professora Débora dos santos, que nos auxiliou nos ensaios de citotoxicidade;

Ao professor Francys Kley V. Moreira da UFSCAR, que nos auxiliou com as análises do MEV/FEG;

A Reinan, por ser um irmão;

A Fernanda, que dividiu comigo não só um lar mais também experiências únicas;

Aos meus colegas e amigos que ganhei durante esses dois anos, representados por Bertilha, Danilo e Lurdinha, que me deram suporte emocional para chegar ate aqui;

Ao grupo de pesquisa no qual esse trabalho foi produzido;

A todos os funcionários e professores do departamento de Ciências e Engenharia de Materiais, em especial a Edinaldo, Dona Núbia e Professor Luiz Eduardo, que sempre foram solícitos ao serem procurados por mim;

À Universidade Federal de Sergipe (UFS), à CAPES ao CNPq, pelo apoio laboratorial e financeiro para a realização dessa pesquisa.

Resumo da Dissertação apresentada ao P²CEM/UFS como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais (M. Sc.)

AValiação da Resistência à Corrosão e Citotoxicidade de Ligas Ti-35Nb-xTa submetidas à tratamentos de superfície

Thamyres Moura Lima
Fevereiro / 2018

Orientadora: Sandra Andreia Stewart de Araujo Souza
Co-orientadora: Michelle Cardinale Souza Silva Macedo

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais

O titânio e suas ligas são os materiais mais atrativos para implantes devido as suas excelentes propriedades mecânicas, maior biocompatibilidade e melhor resistência à corrosão em comparação com as ligas convencionais. Para este tipo de aplicação, a resistência à corrosão é crucial, uma vez que os fluidos fisiológicos são eletrólitos agressivos que contém íons cloreto. Diante deste fato, as modificações de suas superfícies têm sido propostas como uma maneira de garantir um alto desempenho do implante tanto na resistência à corrosão como na melhoria do processo de osteointegração. Portanto, neste trabalho, ligas Ti-35Nb-xTa ($x = 0; 2.5; 5.0; 7.5$) foram solubilizadas a 1000 °C /1h, resfriadas em água e posteriormente anodizadas a 20V por 1h. Em seguida então submetidas aos testes eletroquímicos e de citotoxicidade com o intuito de avaliar a resistência à corrosão e biocompatibilidade. Os resultados mostram que ligas contendo maiores teores de Ta apresentam maiores resistências à corrosão em SBF, antes e após o processo de anodização. O aumento da concentração do tântalo desloca as curvas de polarização anódica para regiões de menores densidades de corrente e as resistência à polarização, R_p , indicam que o filme de óxido fornece uma melhor barreira contra os íons agressivos à medida que o tântalo é adicionado à liga. Nos experimentos de citotoxicidade, a análise de dados mostra que nenhuma das amostras testadas foi citotóxica após um dia de contato com as células. As comparações entre os grupos mostram que não existem diferenças estatísticas entre eles, exceto para a Ti-35Nb-7.5Ta não anodizada, que apresentou uma maior quantidade de células vivas.

Palavras-chave: ligas de titânio, anodização, biocompatibilidade, implantes.

Abstract of dissertation presented to P²CEM/UFS as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Materials Science and Engineering (M.Sc.)

EVALUATION OF THE CORROSION RESISTANCE AND CYTOTOXICITY OF THE Ti-35Nb-xTa ALLOYS SUBMITTED TO SURFACE TREATMENTS

Thamyres Moura Lima

February /2018

Advisors: Sandra Andreia Stewart de Araujo Souza
Michelle Cardinale Souza Silva Macedo

Department: Materials Science and Engineering

Titanium and its alloys are considered to be the most attractive metallic materials for implants because of their excellent mechanical properties, superior biocompatibility and better corrosion resistance in comparison with conventional alloys. Corrosion resistance is a crucial property for this kind of application once physiological fluids are chloride containing solutions. Moreover, their biocompatibility is directly associated with this property. As a result, surface modifications are being utilized on implant surfaces to guarantee an optimal performance. Therefore, in this work, Ti-35Nb-xTa ($x = 0; 2.5; 5.0; 7.5$) (% wt) alloys were solution treated at 1000°C /1h and cooled under water, anodized at 20 V for 1 h, and then submitted to electrochemical and cytotoxicity tests, with the intention to evaluate their corrosion resistance and biocompatibility. These tests were also realized in alloys without surface modifications. Outcomes show that the alloys containing bigger amounts of Ta present higher corrosion resistance in SBF. In the anodized alloys, it is also observed an increasing trend when Ta is added to Ti-35Nb alloys. Their higher values of resistance to polarization, R_p , indicate that the formed anodic oxide films provide a better protecting barrier against aggressive ions. In cytotoxicity experiments, the analysis of the data shows that none of the tested samples was cytotoxic after one day of contact with the cells. Comparisons between groups show that there were no statistical differences, except for the Ti-35Nb-7.5Ta alloy without surface modification.

Keywords: Ti alloys, anodization, biocompatibility, implants

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Células unitárias das fases β e α (MELLO et al ., 2014).....	8
Figura 3.2 Efeito dos elementos de liga nos diagramas de fase das ligas de titânio. (a) α -estabilizadores; (b) β -estabilizadores isomórficos; c) β -estabilizadores eutetóides; d) elementos neutros(LUTJERING; WILLIAMS et al 2007).	9
Figura 3.3 Diagrama de Pourbaix para o Ti em meio aquoso: representação dos potenciais de equilíbrio (E) em relação ao pH (Pourbaix, et al 1963).....	12
Figura 3.4 Representação esquemática da composição da camada de óxido formada sobre a superfície de Ti-CP em contato com o fluido corporal (Textor et al., 2001).	13
Figura 3.5 Esquema de uma célula eletroquímica.....	15
Figura 3.6 Tipos de camadas de óxido que podem ser formadas sobre o metal no processo de anodização (ROOT et al., 2017; KARAMBAKHSH et al., 2012).....	17
Figura 3.7 a) Desenho esquemático mostrando a dependência das condições de anodização no controle da estrutura TiO ₂ , b) Imagens de elétrons secundários da superfície e da seção transversal dos nanotubos de TiO ₂ formados pelo processo de anodização a partir do Ti	17
Figura 3.8 Processo de formação do TiO ₂ anódico sem a presença (imagem à esquerda) e com a presença (imagem à direita) de íons fluoreto (Macak et al., 2007).....	18
Figura 3.9 Espessura da camada nanotubular obtida em meio glicerol/ água deionizada com 0,5% em massa de NaF e Na ₂ SO ₄ 0,2M usando uma voltagem de 20V em função do tempo de anodização (Zhao et al 2007).....	19
Figura 4.1 Desenho esquemático de um eletrodo de trabalho empregado nos ensaios eletroquímicos.....	22
Figura 4.2 Célula eletroquímica utilizada no processo de anodização.....	23
Figura 4.3 Desenho esquemático da célula eletroquímica utilizada na obtenção das curvas de polarização anódica e de impedância.	25

Figura 5.1 Micrografias das ligas solubilizadas a 1.000°C por 1h e resfriadas em água. Composições: (a) Ti-35Nb; (b) Ti-35Nb-2,5Ta; (c) Ti-35Nb-5Ta; (d) Ti-35Nb-7,5Ta.	27
Figura 5.2 Difratomogramas de raios-X das ligas Ti-35Nb (a), Ti-35Nb-2,5Ta (b), Ti-35Nb-5Ta (c) e Ti-35Nb-7,5Ta (d) solubilizadas a 1000°C por 1h e resfriadas em água.	28
Figura 5.3 Imagens (MEV) com aumento de 10.000 x de amostras anodizadas a 20V por 1h de composições Ti-35Nb (a), Ti-35Nb-2,5Ta (b), Ti-35Nb-5Ta (c). e Ti-35Nb-7,5Ta (d). O detalhe na parte superior esquerda de cada imagem corresponde a uma ampliação de 100.000 x.....	30
Figura 5.4 Curvas de polarização anódica em meio de SBF para as ligas Ti-35Nb-xTa	31
Figura 5.5 Curvas de polarização anódica em meio de SBF para as ligas Ti-35Nb-xTa (x = 0; 2,5; 5; 7,5) anodizadas.	34
Figura 5.6 Diagrama de Nyquist das ligas Ti-35Nb-xTa (x = 0; 2,5; 5; 7,5) sem anodizar.....	35
Figura 5.7 Diagrama de Nyquist das ligas Ti-35Nb-xTa (x = 0; 2,5; 5; 7,5) anodizadas.....	36
Figura 5.8 Capacitância das ligas Ti-35Nb-xTa, anodizadas e sem anodizar , com seus respectivos desvios padrão.....	38
Figura 5.9 Citotoxicidade em células MC3T3 expostas às ligas Ti-35Nb-xTa SA e A por 24h..	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Resultado de testes realizados para avaliação da biocompatibilidade de diferentes tipos de metais (Bartáková et al 209)	11
Tabela 3.2	Métodos de modificação de superfície empregados para titânio e suas ligas (Sobieszczyket al., 2010)	14
Tabela 4.1	Reagentes utilizados na preparação da solução de SBF	24

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. OBJETIVO GERAL:.....	4
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	4
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3.1. BIOMATERIAIS	5
3.2. TITÂNIO E SUAS LIGAS.....	7
3.3. RESISTÊNCIA À CORROSÃO DO TITÂNIO E SUAS LIGAS EM MEIO BIOLÓGICO	11
3.4. TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE EM LIGAS DE TITÂNIO	13
3.4.1. ANODIZAÇÃO	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1. TRATAMENTOS TÉRMICOS	20
4.2. MICROSCOPIA ÓPTICA	20
4.3. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)	20
4.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	21
4.5. CONFECÇÃO DOS ELETRODOS DE TRABALHO	21
4.6. ANODIZAÇÃO DAS LIGAS	22
4.7. PREPARAÇÃO DO FLUIDO CORPÓREO SIMULADO (SBF)	23
4.8. ENSAIOS ELETROQUÍMICOS	24
4.9. ENSAIO DE CITOTOXICIDADE	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1. CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL DAS LIGAS	27
5.2. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS SUPERFÍCIES ANODIZADAS	29

5.3.1 CURVAS DE POLARIZAÇÃO ANÓDICA	31
5.3.2 IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA	35
5.4. ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE	39
6. CONCLUSÕES.....	411
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	422
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1. INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida, as lesões causadas por acidentes domésticos e as deformidades provocadas por violência no trânsito são apontados pelos especialistas como as principais causas do crescimento do número de cirurgias que necessitam de implantes ortopédicos (GIAVARESI *et al.*, 2004; MIRANDA *et al.*, 2013). Devido a tais fatores são colocados aproximadamente 1,5 milhão de próteses de quadril e 250 mil de joelho por ano (NASAB *et al.*, 2010), crescendo, assim, a demanda por biomateriais para a fabricação desses dispositivos.

Embora o mercado já disponibilize de uma grande variedade de biomateriais destinados à fabricação de próteses, pesquisas realizadas pela Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA – Food and Drug Administration) nos Estados Unidos apontam para altos índices de falhas e complicações em diversos tipos de próteses (GRIGAL *et al.*, 2012). No Brasil, o portal do Ministério da Saúde relatou que o SUS (Sistema Único de Saúde) gastou 103 milhões de reais em 2005 com cirurgias para a retirada ou reparação de próteses que falharam na sua função. Assim, apesar de muitos dispositivos médicos serem implantados todos os anos, ainda existe espaço para inovação e melhoria dos biomateriais.

Dessa forma, os estudos sobre aspectos que condicionam a qualidade de um biomaterial, tais como: resistência à corrosão, interação implante/tecido, densidade e propriedades mecânicas, são necessários para assegurar a funcionalidade plena das próteses (SCHEMITSCH *et al.*, 2010). Para a substituição de longo prazo, os biomateriais metálicos são considerados a melhor opção devido à suas boas propriedades mecânicas, especialmente em aplicações de suporte de carga, isto é, nas articulações de joelho, de quadril e dentárias (GAMES *et al.*, 2012; GRIGAL *et al.*, 2012). Nesse caso, o titânio e suas ligas são os materiais metálicos mais comumente utilizados devido, também, à elevada resistência à corrosão e biocompatibilidade (FAVERANI *et al.*, 2011).

Dentre as ligas de Ti, destacam-se as do tipo beta obtidas a partir de elementos de liga biocompatíveis (Nb, Mo, Ta e Zr). Essas ligas oferecem a possibilidade de associar baixo módulo de elasticidade, cujos valores são mais próximos ao do osso que

outros materiais metálicos, além da alta resistência à corrosão (WANG *et al.*, 2008; MOHAMMED *et al.*, 2014).

A alta resistência à corrosão do titânio e suas ligas ocorre pela formação espontânea de uma fina camada de óxido de TiO_2 sobre suas superfícies, resultante da exposição ao oxigênio. Esta camada atribui propriedade de biocompatibilidade ao titânio e suas ligas (HUANG, 2003). Quando envoltos por um meio ácido, como a saliva ou outros componentes como íons de fluoreto e cloreto, o efeito protetor da camada pode ser afetado, iniciando um processo de corrosão que, por sua vez, pode influenciar na funcionalidade e na biocompatibilidade dos implantes, podendo estes sofrer alterações estruturais que venham a comprometer sua estabilidade estrutural e passividade (NIKOLOPOULOU *et al.*, 2006; CORREA *et al.*, 2009; ASHRAFIZADEH, 2009).

A resistência à corrosão e biocompatibilidade tem relação íntima com a osseointegração, que pode ser definida como conexão estrutural e funcional direta entre osso organizado vivo e a superfície de um implante submetido a carga, auxiliando na recuperação e adaptação do tecido, estão diretamente ligadas à superfície do material (BRAMMER *et al.*, 2012; GRIGAL *et al.*, 2012). Dessa forma, os tratamentos de superfície se constituem como alternativa para esses biomateriais metálicos alcançarem uma boa funcionalidade, minimizar a reação de rejeição do corpo estranho ao promover a osseointegração, assim como para aumentar a resistência à corrosão no meio fisiológico (WENNERBERG, ALBREKTSSON e LAUSAMAA, 1996; RATNER e BRYANT, 2004). Isso pode aumentar a eficácia e a durabilidade do implante, evitando novas cirurgias que, além de custosas, são traumatizantes e de alto risco para o paciente (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

As técnicas de modificação de superfície no Ti e suas ligas incluem tratamentos mecânicos, pulverização térmica, processo sol-gel, tratamentos químicos e eletroquímicos, implantação de íons, entre outros (SUL *et al.*, 2002; GRIGAL *et al.*, 2012), sendo as de maior emprego as técnicas eletroquímicas, mais particularmente, a anodização devido ao seu baixo custo, simplicidade e versatilidade. Nesse processo podem-se produzir diversas alterações na microtopografia através da variação de parâmetros como: natureza do eletrólito, tensão e tempo aplicados, temperatura, etc.

Essas alterações microtopográficas incluem mudanças no grau de porosidade e rugosidade, ambas importantes para a qualidade da osseointegração dos implantes.

A literatura mostra algumas ligas de Ti do tipo beta com propriedades mecânicas e caracterização micro estrutural bem definida, mas que ainda necessitam de maior atenção quanto às suas propriedades de superfície (LI, ZHAN e JIANG, 2012; SOUZA *et al.*, 2010). Dentre estas, pode-se citar as ligas Ti-xNb-yTa ($x = 25; 30; 35$; $y = 0; 2,5; 5; 7,5$), investigadas por SOUZA *et al.*(2010), cujo grupo Ti-35Nb-xTa apresentou a melhor combinação de propriedades para implantes femorais. Portanto, este trabalho visa contribuir com o estudo de biomateriais metálicos ao avaliar a influência das adições de tântalo sobre a resistência à corrosão e biocompatibilidade de ligas Ti-35Nb-xTa antes e após o processo de anodização.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL:

Avaliar a resistência à corrosão e biocompatibilidade das ligas Ti-35Nb (0; 2,5; 5,0; 7,5) Ta (% em peso) com e sem formação de camadas de óxidos obtidas por anodização.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Correlacionar a influência dos teores de tântalo sobre as camadas de óxidos formadas por anodização;
- ✓ Avaliar a resistência à corrosão das ligas, com e sem modificações das superfícies, em meio de SBF;
- ✓ Avaliar a toxicidade das ligas com e sem modificações das superfícies através de testes de citotoxicidade *in vitro* em células osteoblásticas do tipo MC3T3.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. BIOMATERIAIS

O desenvolvimento dos biomateriais teve início há milhares de anos com a utilização de materiais para tratar, aumentar a eficiência ou substituir tecidos e órgãos. No entanto, conceitos relativos à infecção e reação biológica ainda não eram conhecidos, o que resultava em alto índice de insucesso. Com o passar dos anos e a evolução da ciência, as propriedades desses materiais foram estudadas e melhoradas. Tornando mais sólida a utilização de variados materiais para a confecção de implantes, assim como o seu conceito (NAVARRO *et al.*, 2008)

Segundo WILLIAN *et al.*(1987), biomateriais são todas as substâncias ou combinação de substâncias, exceto fármacos, de origem natural ou sintética, que podem ser usadas durante qualquer período de tempo, como parte ou como sistemas que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo. Essa definição é a mais difundida atualmente e é o resultado da evolução desses materiais, a qual pode ser dividida nas seguintes gerações (CUI *et al.*, 2009; POPA *et al.*, 2011; GRIGAL *et al.*, 2012).

1ª - Emprego de materiais predominantemente de origem natural, tais como: ouro e marfim na reposição de dentes, vidro para reposição do globo ocular, aço ou madeira para confecção de próteses de membros.

2ª - Uso de materiais avançados, desenvolvidos para outras aplicações (indústria automobilística, aeronáutica e bélica). Ex: ligas de titânio, lentes acrílicas e teflon.

3ª - Uso de materiais desenvolvidos com características específicas de acordo com a aplicação. Ex.: válvulas cardíacas e marca-passos.

4ª - Confecção de materiais que empregam os conceitos de Biomimética (reprodução de formas e/ou função de tecidos biológicos) e da Engenharia de Tecidos. Essa geração inclui os materiais que devem servir como arcabouços para o crescimento celular *in vitro*, desenvolvendo o tecido que posteriormente será implantado.

De acordo com WILLIAMS (1992), um biomaterial deve atender a certos requisitos para apresentar um bom desempenho, tais como: ser compatível, de forma a não produzir reações inflamatórias intensas, tóxicas ou alérgicas; proporcionar bioadesão (indução do crescimento do tecido) e ser biofuncional, ou seja, deve apresentar um conjunto de propriedades que o capacite a desempenhar uma função desejada.

Segundo sua composição química, os biomateriais podem ser divididos em quatro grandes grupos: materiais cerâmicos, poliméricos, metálicos e compósitos. Cada grupo apresenta diferentes propriedades, assim, a escolha por um deles dependerá do tecido a ser substituído. Nesse caso, a relação do material com o meio onde é submetido se constitui como um dos fatores mais importantes para o sucesso do implante (GRIGAL *et al.*, 2012).

Os biomateriais candidatos a implantes podem ainda ser classificados, quanto à sua resposta biológica, ou seja, como o organismo e o implante se comportam quando o material é implantado. Os materiais são classificados em bioinertes ou biotolerantes, biointeligentes e bioativos (RIGO *et al.*, 1999; EISENBARTH *et al.*, 2004).

Os biotolerantes ou bioinertes, promovem o encapsulamento do implante e isso faz com que o tecido e a superfície do material não mantenham uma ligação química, o que torna tal interação tecido/implante limitada apenas a um suporte. Como exemplos desses tipos de materiais temos o ouro, as ligas Co-Cr, aços inoxidáveis, zircônio, titânio, nióbio, tântalo e politilmetacrilato (RIGO *et al.*, 1999; GRIGAL *et al.*, 2012).

Materiais inteligentes ou biomiméticos, implica que esses materiais serão capazes de sentir mudanças nos seus ambientes e assim responder a essas mudanças segundo maneiras predeterminadas (Holzapfel *et al.*, 2012).

Os bioativos contribuem para a formação de um novo tecido havendo troca de íons e surgimento de ligações químicas na interface osso-implante, materiais mais desejados para dispositivos implantáveis, pois ajuda na recuperação do tecido lesionado, proporcionando ao paciente uma melhor recuperação (FAVERANI *et al.*, 2012).

Segundo Francischonen & Vasconcelos (1998), a recuperação do tecido ósseo ocorre através da osseointegração, que corresponde à conexão direta, estrutural e funcional entre o osso e a superfície de um implante. A interação entre o biomaterial e o fluido biológico depende das características de sua superfície, tais como: fatores químicos, rugosidade e topografia (POPA *et al.*, 2011), o que a torna, portanto, crucial para o sucesso do implante.

Nesse sentido, as ligas metálicas com superfícies modificadas ganham grande atenção quando se trata da substituição de tecidos duros, pois com essas modificações os materiais bioinertes podem se tornar bioativos. Dentre esses materiais metálicos, destacam-se o Ti e suas ligas, os quais são bioinertes e possuem propriedades mecânicas desejáveis para implantes ortopédicos e dentários. Outra característica importante é que estes materiais formam naturalmente uma camada de óxido em sua superfície que contribui, tanto na resistência à corrosão como na proliferação celular. (RIGO *et al.*, 1999; FRAUCHIGER *et al.*, 2004; GAMES *et al.*, 2012).

Várias técnicas são empregadas para modificar as superfícies do Ti e suas ligas, dentre elas, pode-se citar a oxidação anódica, oxidação térmica, tratamento químico, sol-gel e deposição de feixe acrescido de íon (IBED) (Lin e Yen *et al.*, 2006), sendo que a oxidação anódica fornece uma morfologia de óxido nanotubular, que propicia a bioadesão e osseointegração.

3.2. TITÂNIO E SUAS LIGAS

O titânio é um elemento que pode apresentar dois tipos distintos de estruturas cristalinas: CCC (fase β) e HC (fase α), as quais são representadas na Figura 3.1. A fase β é estável em temperaturas superiores a 883°C, sendo esta temperatura de transformação alotrópica conhecida como β -transus.

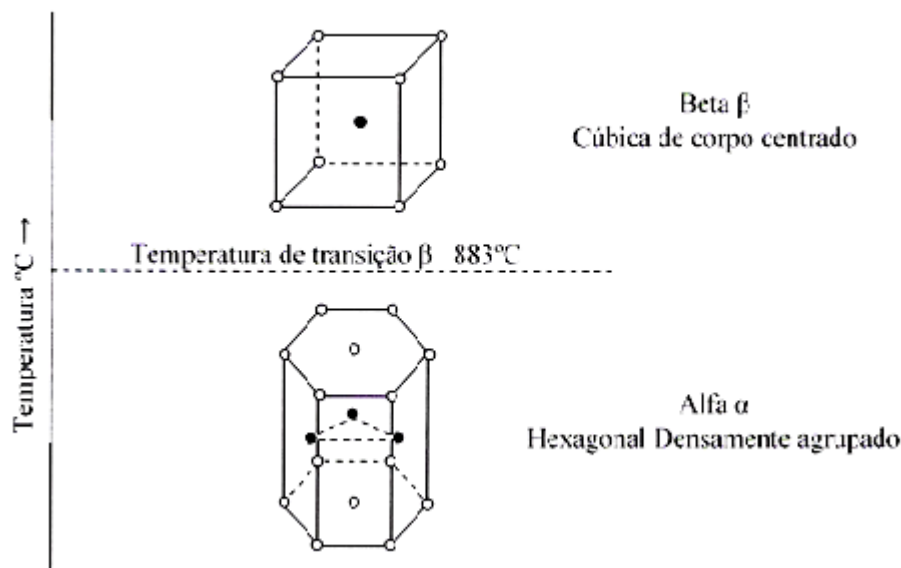


Figura 3.1 Células unitárias das fases β e α (MELLO *et al.* , 2014).

A adição de elementos de liga ao titânio pode alterar a temperatura de transformação alotrópica e a quantidade de cada fase presente. Elementos como o alumínio, gálio e germânio, além dos intersticiais como o carbono, oxigênio e nitrogênio elevam essa temperatura ampliando o campo de existência da fase α , como mostra a Figura 3.2a sendo, portanto, denominados de elementos α -estabilizadores.

Por outro lado, se elementos β -estabilizadores são utilizados, a fase β se torna estável em temperaturas menores que 883°C. Nesse caso, tais elementos podem ser divididos em β -isomorfos, onde se destacam o molibdênio, vanádio, tântalo e nióbio, e β -eutetóides, tais como: ferro, manganês, cromo, cobalto, níquel, cobre, silício e hidrogênio. As Figuras 3.2b e 3.2c mostram o efeito dos elementos β -isomorfos e β -eutetóides sobre o diagrama de fases, respectivamente. Através destas figuras, é possível verificar que a fase β se decompõe em $\alpha + \beta$ com a utilização de elementos β -isomorfos, enquanto que nos β -eutetóides, essa decomposição resulta em $\alpha + \text{TiX}$, onde X é o elemento β -estabilizador.

Por fim, podem ainda ser encontrados elementos classificados como neutros já que não influenciam de forma significativa na β -transus. O zircônio e o estanho são conhecidos por apresentar tal efeito, que pode ser observado no diagrama de fase apresentado na Figura 3.2d.

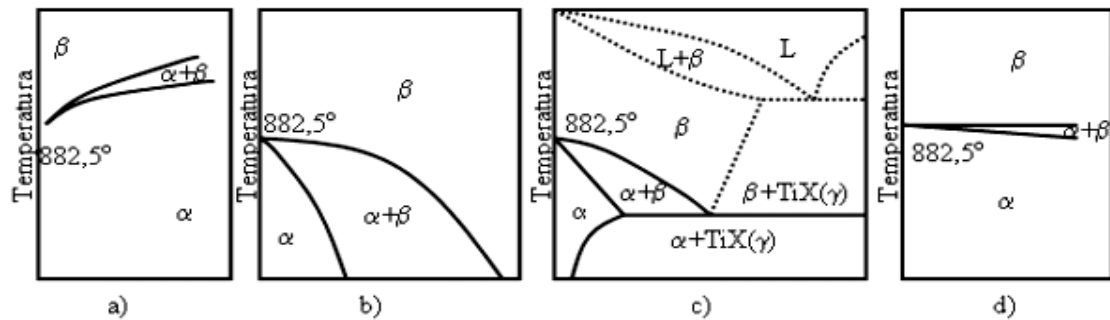


Figura 3.2 Efeito dos elementos de liga nos diagramas de fase das ligas de titânio. (a) α -estabilizadores; (b) β -estabilizadores isomórficos; (c) β -estabilizadores eutetóides; (d) elementos neutros (LUTJERING; WILLIAMS *et al.*, 2007).

Dependendo de suas microestruturas, o titânio e suas ligas podem ser divididos em três classes principais: as do tipo α , do tipo $\alpha + \beta$, e do tipo β . As ligas α correspondem ao titânio comercialmente puro em seus diferentes graus, e às ligas que apresentam uma fração de volume de fase β menor que 10%. Estas ligas possuem uma boa resistência mecânica e resistência à fluência em altas temperaturas, além de boa soldabilidade (COLLINGS *et al.*, 1984).

As ligas do tipo $\alpha + \beta$ apresentam microestruturas bastante diversificadas onde a fração de volume de β pode variar entre 10 e 50%. As ligas desta classe foram amplamente empregadas em implantes ortopédicos e dentários nas últimas décadas devido à grande disponibilidade e boa combinação de propriedades. Um exemplo clássico do tipo $\alpha + \beta$ é a liga Ti-6Al-4V, desenvolvida para aplicações na indústria aeroespacial e posteriormente utilizada na confecção de implantes femorais (LI *et al.*, 2014; GLYNN *et al.*, 2014). Infelizmente, algumas restrições passaram a ser feitas quanto ao emprego dessas ligas em dispositivos implantáveis, devido à presença do vanádio, que tanto no estado elementar quanto na forma de óxido é tóxico, e à presença do alumínio que tem sido associada ao mal de Alzheimer (ELIAS *et al.*, 2015).

As ligas do tipo β possuem grandes quantidades de elementos β -estabilizadores, podendo apresentar uma mistura estável de α e β , com a fase α precipitando em seus contornos de grãos. Essas ligas são tratáveis termicamente por envelhecimento e apresentam boa conformabilidade, mas baixa soldabilidade. Por possuírem módulo de elasticidade mais próximo ao do osso quando comparado com outros materiais metálicos, bem como melhor resistência à corrosão em ambientes biológicos, são

consideradas as candidatas mais promissoras para implantes ortopédicos e dentários (LEYENS, 2003; POP *et al.*, 2011; LILJA *et al.*, 2011; FAN *et al.*, 2016).

Em ligas do tipo β , quando o equilíbrio termodinâmico não é alcançado, fases metaestáveis podem ser observadas, tais como: fases martensíticas (α' e α'') e a fase ω . As fases martensíticas se formam sob resfriamento rápido a partir do campo β quando a M_s é atingida, cujo tipo de estrutura cristalina dependerá da concentração do elemento de liga. Para baixas concentrações, uma martensita com estrutura hexagonal (α') será formada. Por outro lado, à medida que a concentração se eleva, esta martensita será então substituída por uma com estrutura ortorrômbica (α'') (DOBROMYSLOV e ELKIN, 2001).

A fase ω é observada em uma faixa muito limitada de teores de elementos β -estabilizadores e sua ocorrência está associada à variação de temperatura imposta à liga. Assim, quando surge a partir de um resfriamento rápido, como resultado do colapso dos planos dentro da fase β que o originou, esta fase é denominada de fase ω atérmica. Se gerada durante um tratamento térmico de envelhecimento ou sob resfriamento lento, a fase ω se formará por processos de nucleação e crescimento e, nesse caso, é denominada de fase ω isotérmica.

Como dito anteriormente, no processo de seleção de novas ligas de titânio para aplicações biomédicas, as ligas β são apontadas como as mais indicadas, principalmente quando elementos como Mo, Nb, Zr e Ta são adicionados ao Ti. Com relação ao Nb e Ta, vale destacar que estes são β -estabilizadores isomorfos que possuem a capacidade de reduzir o módulo de elasticidade de ligas de titânio, visto que suas adições conduzem a um aumento progressivo no parâmetro de rede da fase β , diminuindo a força de ligação entre os átomos (DOBROMYSLOV e ELKIN, 2001).

Estudos *in vivo* realizados para avaliar a biocompatibilidade, osseointegração e liberação de íons metálicos, utilizando diferentes elementos de liga β -estabilizadores, mostraram também que o nióbio e o tântalo apresentam características de elementos que podem fazer parte de ligas destinadas a fabricação de implantes, como verificado na Tabela 3.1. Ainda quando comparados ao alumínio, zircônio, aço 316L e titânio (grau 2), ambos mostraram uma melhor resposta biológica (EISENNBARTH *et al.*, 2004;

MATSUNO *et al.*, 2001; HUSSEIN *et al.*, 2016). Por esses motivos, o uso de Nb e Ta em ligas de titânio tem sido frequente.

Tabela 3.1. Resultado de testes realizados para avaliação da biocompatibilidade de diferentes tipos de metais (BARTÁKOVÁ *et al.*, 2009)

ELEMENTO	TESTE DE DILATAÇÃO	TESTE DE ADESÃO	TRIAGEM	AValiação GLOBAL
Mo	Tolerante	Tolerante	Tolerante	Tolerante
Nb	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível
Ta	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível
Ti	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível
V	Tolerante	Tóxico	Tolerante	Tolerante
Zr	Compatível	Compatível	Compatível	Compatível

Souza *et al.*(2010) realizaram um estudo microestrutural e de propriedades mecânicas de ligas Ti-xNb-yTa (x = 25; 30; 35; y = 0; 2,5; 5; 7,5) (% em peso) sob diferentes condições de resfriamento. Seus resultados mostraram que a liga Ti-35Nb-7,5Ta resfriada em água a partir do campo β , apresentou menor módulo de elasticidade (64 GPa) com microestrutura constituída pela fase β sendo, portanto, a composição, dentre as ligas estudadas, com melhores características para confecção de implantes femorais .

3.3. RESISTÊNCIA À CORROSÃO DO TITÂNIO E SUAS LIGAS EM MEIO BIOLÓGICO

Segundo Sittig *et al.* (1999), o sucesso ou falha de um implante está fortemente ligados às suas propriedades de superfície. Sabe-se que ao interagir com o oxigênio, o titânio e suas ligas criam uma camada de óxido em suas superfícies, sendo o TiO_2 o óxido mais comum e mais estável em uma extensa faixa de pH, como mostra o Diagrama de Pourbaix na Figura 3.4. Este óxido existe em três diferentes formas cristalinas: rutilo (tetragonal, $P4_2/mnm$), bruquita (ortorrômbica) e anatásio (tetragonal, $I4/amd$), sendo o rutilo o mais estável e o que apresenta uma melhor biocompatibilidade (BRANEMARK *et al.*).

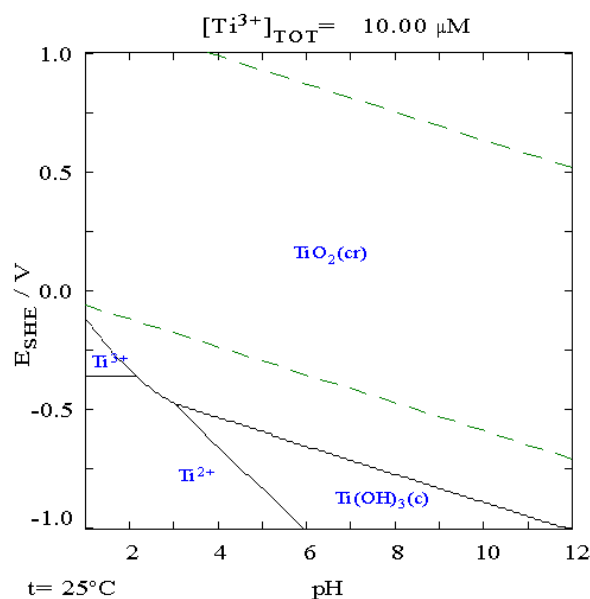


Figura 3.3. Diagrama de Pourbaix para o Ti em meio aquoso: representação dos potenciais de equilíbrio (E) em relação ao pH (POURBAIX *et al.*, 1963).

Quando exposta aos fluidos corporais, essa fina camada de óxido impede que o metal se degrade e libere íons para o organismo, protegendo-o contra a corrosão (HOBBO *et al.*, 1997; BORN *et al.*, 1998; LINDBERG *et al.*, 2008; LILJA *et al.*, 2011; GAMES *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2012). A Figura 3.4 mostra uma representação esquemática da composição dessa camada quando em contato com o fluido corporal. Se danificada, ela é ainda restaurada em um período de tempo muito curto devido à sua capacidade de repassivação (VELTEN *et al.*, 2002). No entanto, heterogeneidades do material como presença de inclusões ou fases com diferentes potenciais podem forçar a ocorrência da corrosão, e provocar a degradação do material ((SAHBALOVSKAYA, 2007; LIU *et al.*, 2012). Essa degradação é facilitada pela presença de íons cloreto no fluido corporal que favorece a incidência de corrosão por pites, sendo este tipo de corrosão muito frequente em implantes (CLARU & MEYER, 1998; FOVET *et al.*, 2001; HUANG *et al.*, 2002; BUCCI *et al.*, 2003).

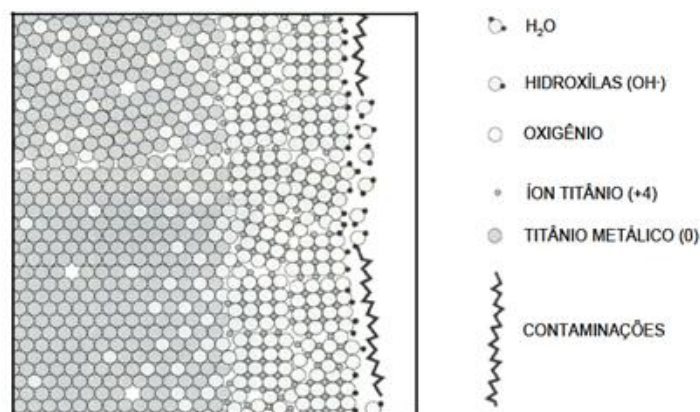


Figura 3.4. Representação esquemática da composição da camada de óxido formada sobre a superfície de Ti-CP em contato com o fluido corporal (TEXTOR *et al.*, 2001).

Outro tipo também muito comum de corrosão em implantes metálicos é a corrosão em frestas, que surge devido à presença de fendas em sua superfície ou naquelas existentes entre o material metálico e outro componente, metálico ou não. Este caso é observado no espaço criado na fixação de uma placa metálica por parafusos. Tanto a corrosão por pites quanto a corrosão por frestas causa danos ao implante comprometendo seu desempenho, o que pode implicar na necessidade de remoção do dispositivo (METALS HANDBOOK, 1987; WILLIAMS, 1990). Portanto, modificações nas superfícies desses materiais implantáveis por processos que permitam aumentar sua resistência à corrosão nesse meio surgem como uma alternativa que contribui para alcançar condições mais desejáveis quando se trata desse tipo de aplicação.

3.4. TRATAMENTOS DE SUPERFÍCIE EM LIGAS DE TITÂNIO

Para materiais metálicos destinados a implantes, a adesão celular e a resistência à corrosão são de fundamental importância para um efetivo sucesso do dispositivo, portanto, uma superfície apropriada deve fazer parte do conjunto de propriedades do material (SILVA, *et al.*; 2003). Nesse sentido, vários tratamentos superficiais têm sido empregados para o titânio e suas ligas a fim de potencializar tais características. De modo geral, estes tratamentos podem ser classificados como modificações mecânicas, químicas ou eletroquímicas, e físicas, como mostra a Tabela 3.2, onde também é possível observar seus respectivos benefícios.

Tabela 3.2 Métodos de modificação de superfície empregados para titânio e suas ligas (SOBIESZCZYK *et al.*, 2010).

MÉTODO DE MODIFICAÇÃO DE SUPERFÍCIE	EFEITO
Métodos Mecânicos	Aumento da adesão a partir da topografia de uma superfície específica
Usinagem	
Lixamento	
Polimento	
Jateamento	
Métodos Químicos e Eletroquímicos	Aumento da biocompatibilidade, bioatividade e condutividade óssea. Aumento da resistência à corrosão. Remoção de contaminação
Tratamento Ácido	
Tratamento Alcalino	
Tratamento Sol-gel	
Oxidação Anódica	
Deposição Química de Vapor (CVD)	
Métodos Bioquímicos	Aumento da biocompatibilidade e da resistência ao desgaste e à corrosão.
Métodos Físicos	
Plasma Spray, Aspersão Térmica.	
Deposição Física de Vapor (PVD)	
Implantação Iônica	
Plasma	

Os tratamentos superficiais mecânicos são utilizados para alterar a rugosidade através de processos de subtração de material da superfície, enquanto que os tratamentos superficiais físicos têm como princípio a deposição de algum material (ex.: deposição de hidroxiapatita). Por outro lado, é nos tratamentos superficiais eletroquímicos que se encontra o maior número de trabalhos publicados, com destaque para o processo de anodização (WU *et al.*, 2013; SISTI *et al.*, 2006),

3.4.1. ANODIZAÇÃO

A anodização é um processo eletroquímico que permite preservar todas as propriedades intrínsecas do metal, protegendo-o contra agressividade do meio ambiente, a partir da criação de uma camada de óxido sobre a superfície,. Esse processo é bastante utilizado devido ao baixo custo, simplicidade e versatilidade, além de ser facilmente

controlável reprodutível e possibilitar uma boa interação biológica entre o tecido e implante, trazendo um ganho considerável na resistência à corrosão do material (HALL *et al.*, 2017; TOSHIAKI *et al.*, 2016).

Como dito anteriormente, a formação da camada de óxido no titânio é um processo espontâneo que ocorre em condições atmosféricas, através da reação deste metal com o oxigênio. Entretanto, nestas condições as camadas formadas não atingem espessuras e determinadas morfologias de interesse para aplicações biomédicas. Desta forma, o processo de anodização estimula o crescimento deste óxido em condições controladas, de modo a obter camadas mais espessas e morfologias que não seriam possíveis em um processo natural.

O processo de anodização utiliza uma célula eletroquímica, cujo metal, que se deseja anodizar, é ligado ao polo positivo de uma fonte de corrente contínua transformando-se no anodo, como mostra a Figura 3.6. O catodo é ligado ao polo negativo podendo ser um metal condutor que não reaja com o banho de anodização, como a platina ou grafite. Uma diferença de potencial entre os eletrodos é gerada, resultando na formação de um campo elétrico entre eles, o qual será responsável pela dissolução do metal e formação da camada de óxido na sua superfície (MACAK *et al.*, 2007).

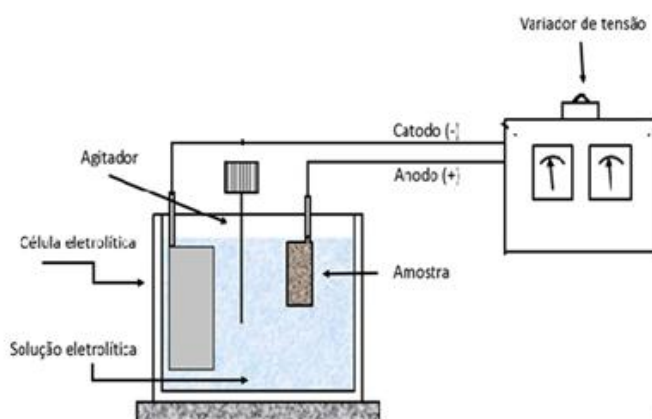


Figura 3.5 Esquema de uma célula eletroquímica

Este filme passivo, resultado da anodização, possui normalmente poucos nanômetros de espessura e diferentes óxidos podem estar presentes, a depender dos

elementos de liga, no entanto, o óxido de titânio (TiO_2) é considerado um dos mais estáveis (ROOT *et al.*, 2017).

A nova camada de óxido é firmemente aderida ao substrato, o que beneficia tanto a resposta biológica do implante quanto a resistência à corrosão (TOSHIAKI *et al.*, 2016). As camadas resultantes podem ser camadas compactas, porosas desordenadas, porosas ordenadas ou nanotubulares altamente ordenadas, como é visto na Figura 3.7 (ROOT *et al.*, 2017; KARAMBAKHSH *et al.*, 2012). Dentre as morfologias citadas, a nanotubular é a de maior interesse ao promover uma melhor adesão das células à superfície do implante, além de evitar proliferação de bactérias minimizando os processos inflamatórios (JINGYAN *et al.*, 2017; JIA-YUN *et al.*, 2016).

De forma geral, o mecanismo de anodização é governado pela composição do eletrólito, pH, tensão aplicada, temperatura, agitação e tempo em que o metal é exposto a tensão. A alteração de um desses parâmetros pode ocasionar a obtenção de camadas de óxido com diferentes estruturas, morfologias e composições químicas (CIPRIANO *et al.*, 2014., 2016; ROOT *et al.*, 2017). A Figura 3.8 mostra um exemplo desse efeito em relação à composição do eletrólito, onde é possível observar que a presença de íons fluoreto estimula a formação de uma camada nanotubular.

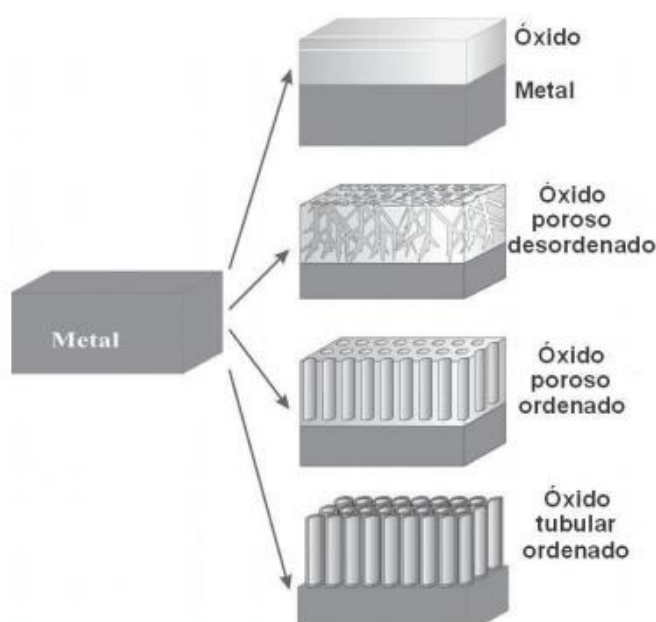


Figura 3.6. Tipos de camadas de óxido que podem ser formadas sobre o metal no processo de anodização (ROOT *et al.*, 2017; KARAMBAKHSH *et al.*, 2012).

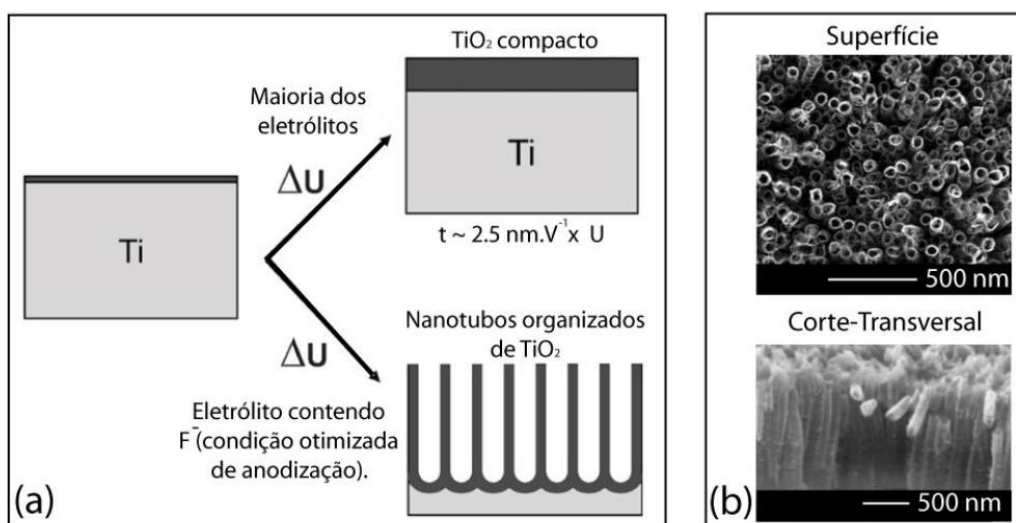


Figura 3.7 a) Desenho esquemático mostrando a dependência das condições de anodização no controle da estrutura TiO_2 , b) Imagens de elétrons secundários da superfície e da seção transversal dos nanotubos de TiO_2 formados pelo processo de anodização a partir do Ti metálico (MACAK *et al.*, 2007).

Quando se utiliza eletrólitos a base de fluoretos, o processo de oxidação não é tão restrito em consequência da dissolução do óxido, como mostra a Figura 3.9 (MACAK *et al.*, 2007; FEIL 2010). Para que ocorra o crescimento dos nanotubos é necessário existir, nesse caso, uma competição entre a formação do óxido anódico (reação: $\text{Ti}_{(s)} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{TiO}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$) e sua dissolução local pelos íons fluoretos (reação: $\text{TiO}_{2(s)} + 6\text{HF} \rightarrow \text{H}_2\text{TiF}_6 + 2\text{H}_2\text{O}$).

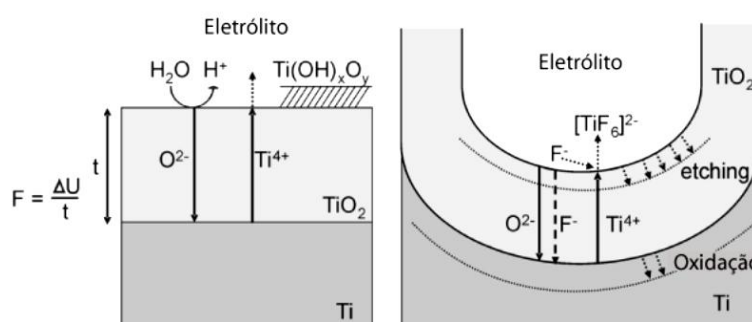


Figura 3.8. Processo de formação do TiO_2 anódico sem a presença (imagem à esquerda) e com a presença (imagem à direita) de íons fluoreto (MACAK *et al.*, 2007).

Na literatura, as tensões mais empregadas para a obtenção de nanotubos são de 10V e 20V (BAUER *et al.*, 2006; YU *et al.*, 2010). Vale ressaltar que o uso de tensões muito baixas, (<5V) normalmente não possibilita a formação de óxido, havendo apenas um ataque da superfície do metal. Em contrapartida, se tensões muito elevadas são aplicadas (> 35 V) a estrutura nanotubular pode ficar comprometida uma vez que esta pode ser destruída ao longo do tempo (LAI *et al.*, 2009). Assim, verifica-se que a escolha da tensão a ser usada na anodização é de fundamental importância quando se busca uma camada de óxido com estrutura auto-organizada.

A mesma preocupação deve-se ter com o tempo de anodização, o qual pode variar de alguns minutos a horas dependendo do resultado desejado. Quando o tempo é relativamente pequeno pode ocorrer apenas um ataque na superfície, aparecendo somente poros devido à dissolução do óxido. Se o tempo de anodização é prolongado, os nanotubos vão aparecendo e se organizando e, uma vez formados, o tempo terá influência somente em sua espessura (ZHAO *et al.*, 2007). Dessa forma, quanto maior o tempo de anodização, mais espessa será a camada dos nanotubos formados, como mostra a Figura 3.10.

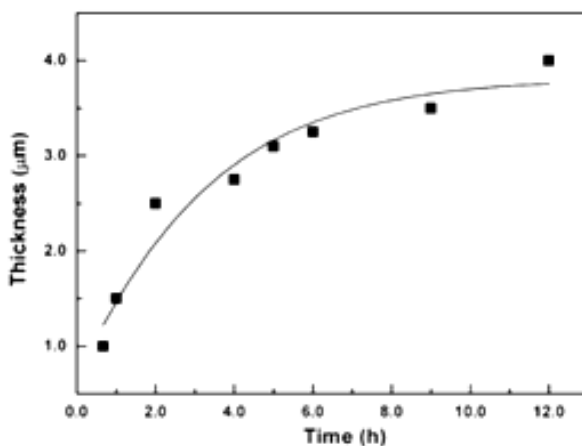


Figura 3.9 Espessura da camada nanotubular obtida em meio glicerol/ água deionizada com 0,5% em massa de NaF e Na₂SO₄ 0,2M usando uma voltagem de 20V em função do tempo de anodização (ZHAO *et al.*, 2007).

Para maior eficiência da anodização é preciso levar em consideração a seleção dos elementos de liga bem como sua microestrutura (ROOT *et al.*, 2017). Elementos que têm a capacidade natural de formação de uma película de óxido protetora, como o titânio, nióbio, zircônio e tântalo, são os melhores candidatos para apresentar, sob

condições controladas, óxidos com morfologias auto-organizadas (ZWILLING, *et al.*, 1999, SIEBER, *et al.*, 2005, TSUCHIYA *et al.*, 2004, OH *et al.*, 2006). Também é conhecido na literatura que, em ligas de titânio, as fases presentes afetam a nucleação e o crescimento de nanotubos sendo preferível nesse caso, ligas que contenham a fase β retida, uma vez que esta favorece a formação de nanotubos com estrutura regular e mais uniforme (MACAK *et al.*, 2007).

Estudos mostram que o aumento da resistência à corrosão dessas ligas pode ser alcançado pelo uso de anodização que, nos últimos anos vem sendo mais empregada com o intuito de se alcançar uma camada nanoestruturada, dentre esses estudos encontram-se os apresentados por MACAK *et al.*(2007) e KIM *et al.*(2013). No entanto, vale destacar que nem sempre as melhores respostas são obtidas quando as camadas nanotubulares são formadas, existindo outros aspectos a serem considerados como, por exemplo, a permeabilidade do eletrólito no filme formado, que pode eventualmente ser maior com este tipo de morfologia, produzindo, dessa forma, camadas protetoras menos eficientes. Portanto, neste estudo não houve uma maior preocupação com a obtenção de nanotubos, mas apenas um interesse no efeito da anodização sobre a resistência à corrosão e biocompatibilidade das ligas Ti-35Nb-xTa.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. TRATAMENTOS TÉRMICOS

As ligas Ti-35Nb-(0; 2,5; 5; 7,5)Ta (% em peso) utilizadas neste estudo foram produzidas na UNICAMP em forno a arco com atmosfera controlada, tratadas termicamente a 1000°C por 24 h para homogeneização composicional e laminadas a quente com temperatura de trabalho em torno de 1000°C.

Depois de recebidas, sob a forma de placas com espessura de 4 mm, as ligas foram cortadas em cortadora metalográfica CM40 – Teclago, utilizando discos de SiC e, em seguida, foram realizados os tratamentos térmicos a 1000°C por 1 h em forno resistivo com atmosfera de argônio seguido de resfriamento rápido em água. Este tratamento foi realizado com objetivo de obter baixo módulo de elasticidade, conforme visto por SOUZA *et al.*(2010).

4.2. MICROSCOPIA ÓPTICA

Após os cortes e tratamentos térmicos um grupo de ligas com diferentes composições foi selecionado para análise microestrutural. Estas ligas foram então embutidas a frio e lixadas com lixas de SiC de grana 120 a 4000 e, em seguida, foram polidas utilizando pano com alumina em suspensão de 3,0 µm. Após o processo de preparação da superfície, as ligas foram atacadas com uma solução de Kroll, consistindo de 3 ml de HF, 6 ml de HNO₃, e 91 ml de H₂O, e suas microestruturas foram analisadas e fotografadas com o auxílio de um microscópio óptico CARL ZEISS, modelo Axio SCOPE A1 ZEISS.

4.3. DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A técnica de difração de raios X foi utilizada com o intuito de identificar as fases presentes nas microestruturas das ligas Ti-35Nb-xTa tratadas termicamente a 1000°C e resfriadas em água. Assim, após o preparo das superfícies: lixamento até a lixa de grana

4000, seguida de polimento com aumina em suspensão de 3,0 μm , as ligas foram analisadas no difratômetro Empyrean da PANalytical, usando radiação Cu-K α ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$). A fonte de raios X operou sob tensão de 40 kV e corrente de 40 mA. A taxa de varredura foi de 0,055°/s com variação 2θ de 30 a 90° e passo de 0,13° . As fases foram identificadas usando as fichas de padrão do JCPDS (*Joint Committee for Powder Diffraction Standards*).

4.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Para caracterização morfológica das camadas de óxido formadas sobre as ligas anodizadas foi utilizado um Microscópio Eletrônico de Varredura com emissão de campo (MEV-FEG), Philips XL-30, do Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) pertencente ao Departamento de Engenharia de Materiais (DEMa) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Através deste microscópio foram obtidas imagens de elétrons secundários utilizando uma tensão de aceleração de 2 kV.

4.5. CONFECÇÃO DOS ELETRODOS DE TRABALHO

Os eletrodos de trabalho usados nos ensaios eletroquímicos (curva de polarização anódica e impedância eletroquímica) foram confeccionados após o tratamento térmico descrito no tópico 4.1. Inicialmente, as ligas foram lixadas apenas para remover a camada de óxido gerada durante o tratamento térmico. Em seguida, foram desengorduradas em água e acetona. Posteriormente, um fio de cobre foi soldado sobre as ligas para estabelecer contato elétrico e as mesmas foram embutidas a frio com resina poliéster de cura rápida.

Antes da realização dos ensaios eletroquímicos, as superfícies das ligas não anodizadas foram mais uma vez lixadas até a lixa de 4000 mesh, limpas com água destilada e acetona em banho ultrassônico durante 15 min. A Figura 4.1 mostra uma ilustração do esquema de preparação dos eletrodos.

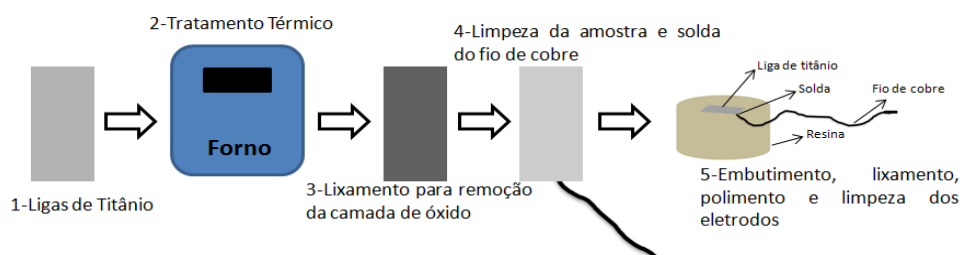


Figura 4.1. Desenho esquemático de um eletrodo de trabalho empregado nos ensaios eletroquímicos.

4.6. ANODIZAÇÃO DAS LIGAS

Para as anodizações, as ligas passaram pelas etapas mostradas na Figura 4.1 com alterações somente no processo de limpeza que foi mais rigoroso, com o objetivo de eliminar, o máximo possível, as impurezas de suas superfícies. Desta forma, após o lixamento até a lixa de 4000 mesh, as ligas foram limpas obedecendo às seguintes etapas: 15 min em acetona PA, 15 min em álcool isopropílico PA e 15 min em água destilada. Todas as etapas foram realizadas utilizando banho ultrassônico, de modo semelhante ao procedimento empregado por MACAK *et al.*(2007). Em seguida, as ligas foram secas com jato de ar frio e guardadas em dessecador até o momento da anodização. É importante informar que nas amostras usadas para a caracterização no MEV não houve a necessidade de embutimento.

O processo de anodização foi realizado com o auxílio de uma fonte de alimentação NetzanschlusBgerät- PHYWE. O eletrólito utilizado foi o fluoreto de amônio NH_4F (0,54 mol/L) dissolvido em uma mistura de água e glicerol (50/50 vol %). Uma célula eletroquímica de dois eletrodos, anodo (ligas de titânio) e cátodo (haste de platina), foi acoplada a fonte conforme pode ser visto na Figura 4.2. A distância entre as ligas e a haste de platina foi fixada em 3 cm. O arranjo mostrado na Figura 4.2 foi desenvolvido para que três amostras fossem anodizadas por vez. Os ensaios foram realizados a temperatura ambiente e sob agitação constante, a tensão aplicada foi de 20V mantida constante durante 1h de anodização.

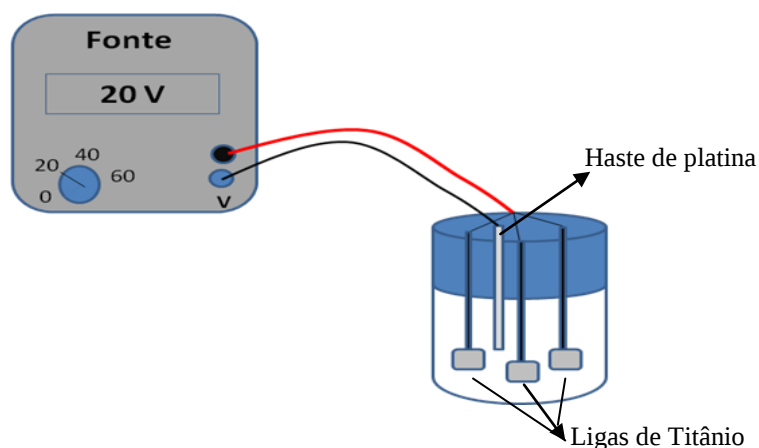


Figura 4.2 Célula eletroquímica utilizada no processo de anodização.

Após o término da anodização, as amostras foram lavadas em água destilada, secas com jato de ar frio e armazenadas no dessecador para os ensaios de polarização, impedância eletroquímica e testes de citotoxicidade.

4.7. PREPARAÇÃO DO FLUIDO CORPÓREO SIMULADO (SBF)

Uma solução de fluido corpóreo simulado (SBF) foi utilizada como eletrólito para avaliar a resistência a corrosão das ligas de Ti-35Nb-xTa. Essa solução foi escolhida uma vez que simula a parte inorgânica do ambiente onde os implantes ficam em contato, a composição do eletrólito é mostrada na Tabela 1.

Para a preparação do SBF alguns cuidados precisam ser tomados, pois essa é de difícil preparo e facilmente contaminada. Por isso todas as vidrarias usadas foram limpas em solução de ácido clorídrico 1 mol/L. Assim, após a limpeza as seguintes etapas para a preparação de 1L de SBF foram seguidas. A água destilada usada na solução foi aquecida a uma temperatura de 37°C, essa temperatura simulando a temperatura média do corpo humano.

Posteriormente os reagentes da Tabela 4.1 foram cuidadosamente adicionados um a um, na ordem que se apresentam. É importante ressaltar que um reagente só era adicionado quando houvesse a total dissolução do anterior. Após a adição do bicarbonato de sódio (NaHCO_3) o pH foi medido e apresentou um valor próximo a 8,0. Antes de adicionar o cloreto de cálcio (CaCl_2), o mesmo deve ser diluído em uma quantidade mínima quanto possível (gotas) de HCl 1 mol/L, então o sal diluído em ácido foi adicionado lentamente à solução. Após a adição do último reagente o pH foi

novamente medido e deve estar em torno de 7,4. Uma vez que todos os reagentes estejam completamente dissolvidos o volume deve ser completado para 1L, com água destilada mantida a 37°C. A solução foi homogeneizada e armazenada na geladeira até sua utilização. Se o preparo da solução for bem sucedido não deve ocorrer precipitação de nenhum sal.

Tabela 4.1: Reagentes utilizados na preparação da solução de SBF.

REAGENTES	Concentração (mol/L)
NaCl	0,20
KCl	$4,51 \times 10^{-3}$
K ₂ HPO ₄	$1,50 \times 10^{-3}$
MgCl ₂	$4,82 \times 10^{-3}$
Na ₂ SO ₄	$7,53 \times 10^{-4}$
NaHCO ₃	$6,25 \times 10^{-3}$
CaCl ₂	$3,71 \times 10^{-3}$

4.8. ENSAIOS ELETROQUÍMICOS

Curvas de polarização anódica e impedância eletroquímica foram realizadas nas ligas de Ti-35Nb-xTa com e sem modificações das superfícies via anodização. Os ensaios foram realizados usando um potenciostato/galvanostato PGSTAT 320N. Assim, uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos foi usada sendo o eletrodo de Ag/AgCl usado como eletrodo de referência, uma haste de platina como contra eletrodo e as ligas de titânio como eletrodos de trabalho. As resistências à corrosão das ligas anodizadas e sem anodizar foi testada em solução de fluido corpóreo simulado (SBF).

Tanto as curvas de polarização anódica com as impedâncias eletroquímicas foram obtidas após a estabilização do potencial de circuito aberto (PCA). A polarização anódica partiu do PCA até 2V de sobretensão, com uma velocidade de varredura de 5 mV/s. As impedâncias eletroquímicas foram realizadas no PCA, com amplitude de sinal de 10 mV, o intervalo de frequência investigado foi de 10^{-2} a 10^4 Hz. Os ensaios de impedância foram realizados mantendo a célula eletroquímica dentro de uma gaiola de Faraday com o intuito de evitar eventuais ocorrências de interferências elétricas. A Figura 4.3 mostra uma ilustração da célula eletroquímica montada para execução dos ensaios.

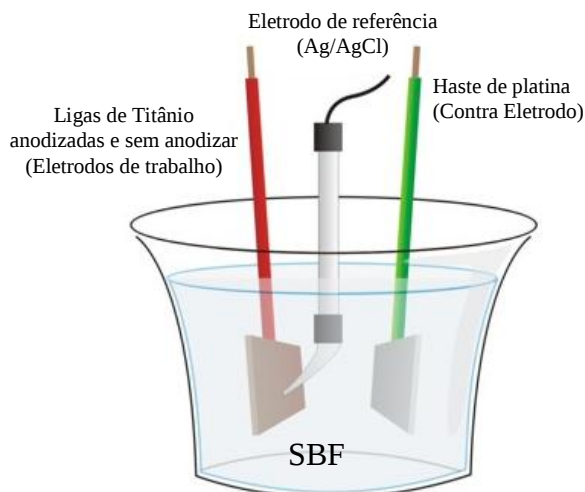


Figura 4.3 Desenho esquemático da célula eletroquímica utilizada na obtenção das curvas de polarização anódica e de impedância.

4.9. ENSAIO DE CITOTOXICIDADE

O ensaio de citotoxicidade realizado nas ligas Ti-35Nb-xTa com e sem modificações das superfícies, seguiu a norma ISO 190993-5 (2009) com o teste de contato direto, onde foram utilizadas células pré-osteoblásticas de camundongo (MC3T3-E1, ATCC®), cultivadas em meio de cultivo (α -MEM) (Sigma) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Cultilab), 1% de L-glutamina (Sigma) e 1% penicilina/estreptomicina (Sigma). As células foram expandidas em atmosfera umidificada (37°C e 5% de CO₂) em incubadora LS Logen e o ensaio foi realizado em triplicata.

Inicialmente, as amostras foram esterilizadas em uma estufa a 170°C por 1 hora. As amostras foram imersas em meio de cultura suplementado com 10% de soro fetal bovino por 1 hora a fim de melhorar a adesão e em seguida foi inoculada a densidade de 1×10^4 células por amostra. As células em contato com as amostras foram incubadas por 24h em estufa a 5%CO₂/37°C. Após atingido esse tempo, utilizou-se o método de MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio. Segundo Mosman (1983) esse ensaio baseia-se na redução celular de MTT [3-(4,5-dimethylthiazol, 2-yl)- 2,5-diphenyl-212 tetrazoliumbromide] em cristais de formazan, que ao serem dissolvidos absorvem na região do visível, podendo ser analisado por espectrofotometria. Essa redução é realizada através de desidrogenases celulares mitocondriais, sendo observada apenas em

células viáveis. Para realizar essa análise, adicionou-se às amostras com as células 1000 µL de solução de 5mg/mL de MTT diluída 10x em solução tampão PBS durante 3h em incubadora. Por fim, retirou-se esta solução e adicionou-se isopropanol acidificado (0,3% de HCl) por 10 min para a dissolução dos cristais de formazan produzidos. A absorbância foi lida a 570 nm pelo leitor de placa ELISA (Synergy H1 Multi-ModeReade). Para fins comparativos, utilizou-se como controle positivo (citotóxico) e negativo (não tóxico) látex e as células sem a presença de biomaterial (cultivada apenas com meio de cultura suplementado), respectivamente. Os dados obtidos nesse teste foram analisados com a análise estatística ANOVA, com o intuito de verificar se houve diferenças entre a distribuição dos grupos estudados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL DAS LIGAS

As microestruturas das ligas Ti-35Nb-xTa ($x = 0; 2,5; 5; 7,5$) solubilizadas no campo β a 1.000°C por 1h e resfriadas em água são apresentadas na Figura 5.1. Na Figura 5.2 são observados seus respectivos difratogramas de raios X.

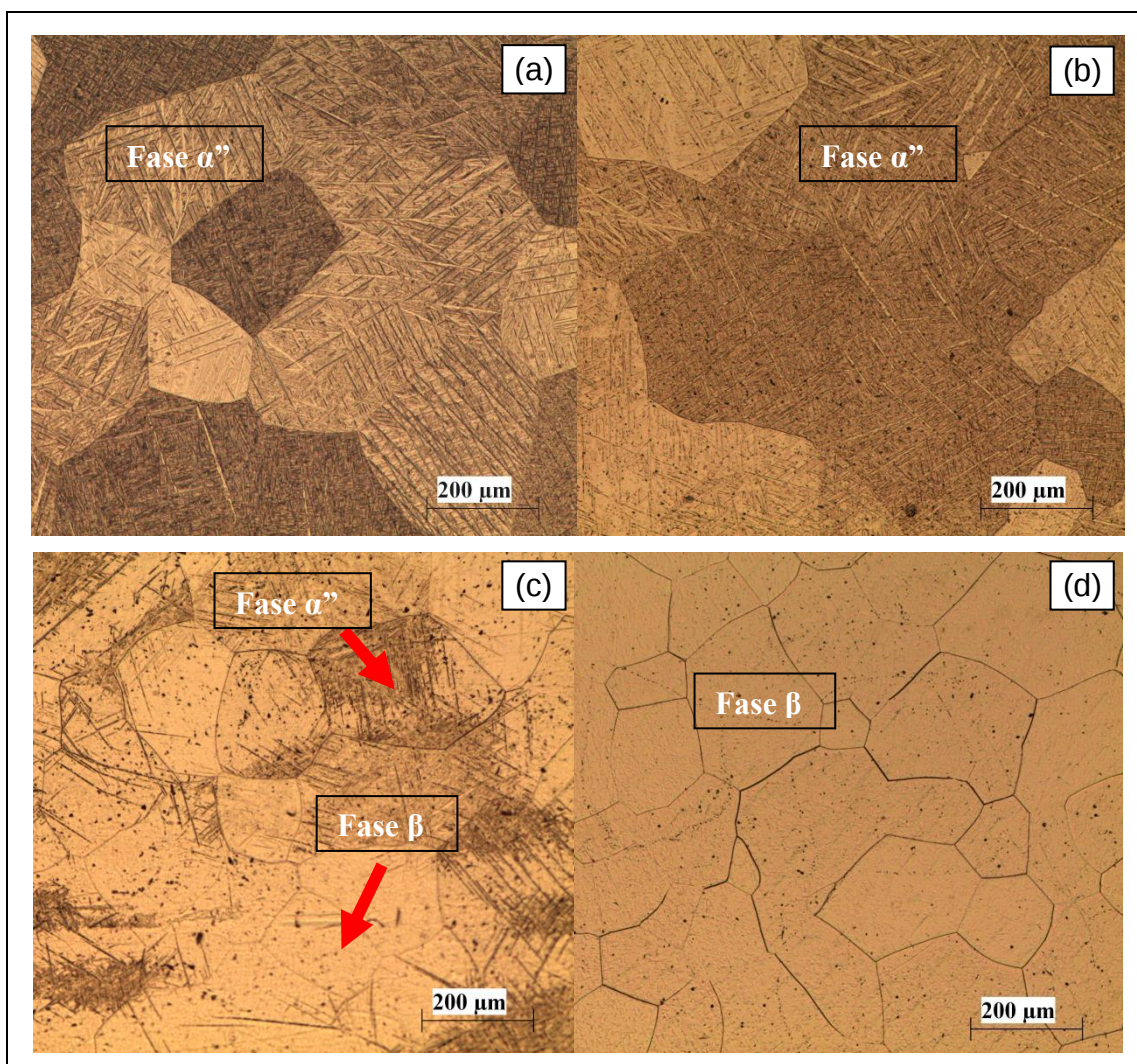


Figura 5.1. Micrografias das ligas solubilizadas a 1.000°C por 1h e resfriadas em água. Composições: (a) Ti-35Nb; (b) Ti-35Nb-2,5Ta; (c) Ti-35Nb-5Ta; (d) Ti-35Nb-7,5Ta.

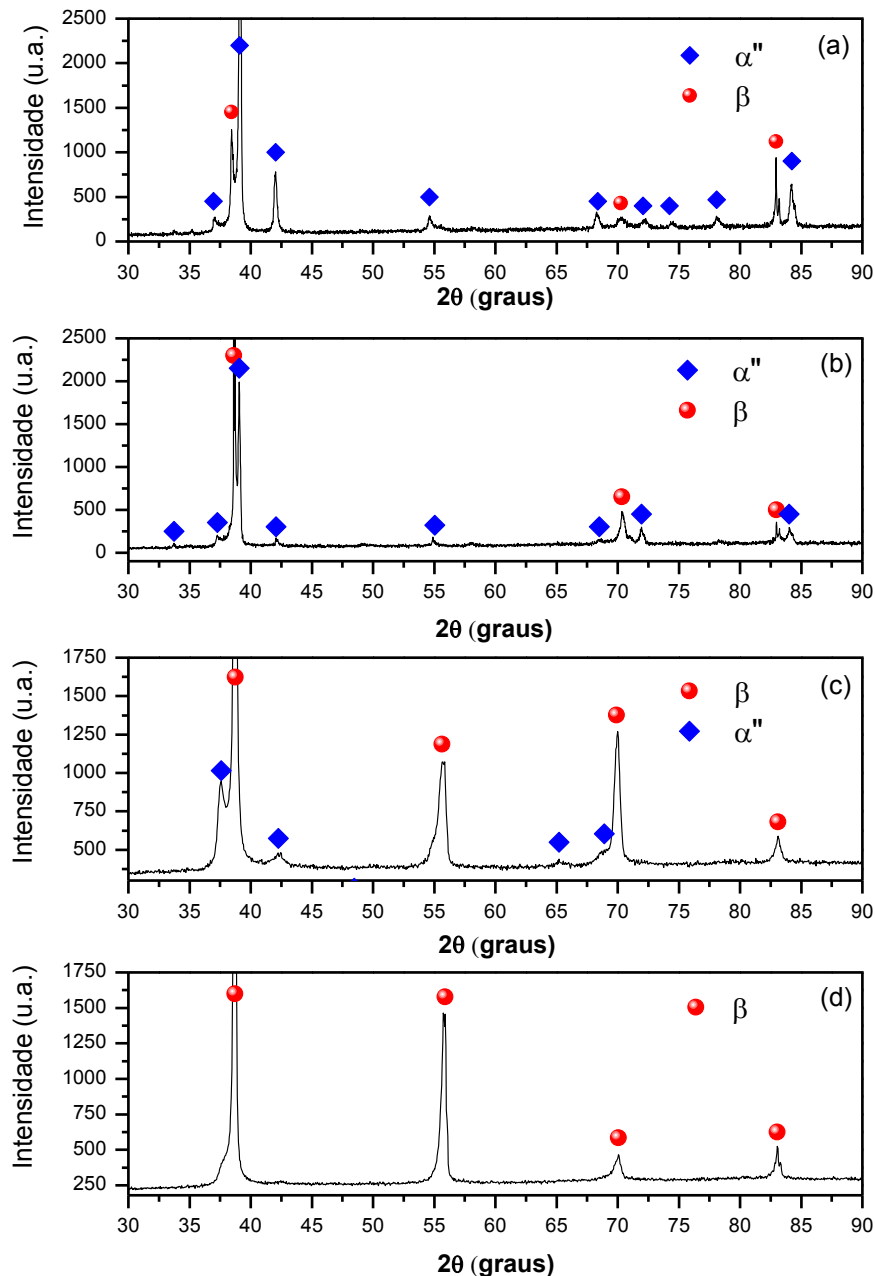


Figura 5.2. Difrátogramas de raios-X das ligas Ti-35Nb (a), Ti-35Nb-2,5Ta (b), Ti-35Nb-5Ta (c) e Ti-35Nb-7,5Ta (d) solubilizadas a 1000°C por 1h e resfriadas em água.

Ao observarmos a liga Ti-35Nb (Figura 5.1a), constatamos que sua microestrutura é constituída pela fase α'' , a qual apresenta uma morfologia de agulhas. Através do seu difratograma de raios-X (Figura 5.2a), é possível verificar que houve retenção parcial de β , embora esta fase não seja perceptível nessa micrografia, por se encontrar, provavelmente, dispersa entre as agulhas da martensita. Com a adição de 2,5% de Ta, (Figuras 5.1b e 5.2b) nota-se que a fase martensítica ainda é predominante,

ou seja, essa concentração de tântalo não foi significativa para produzir um aumento considerável da fração de volume de β , o que é coerente com o fato do tântalo ser considerado um elemento com baixo efeito β -estabilizador (TANG *et al.*, 2016).

Com a adição de 5% de Ta, uma alta fração de volume da fase β já foi observada juntamente com a martensita α'' , como mostra a microestrutura apresentada na Figura 5.1c. A fase β apresenta uma morfologia com aspecto liso, diferente da fase α'' . Seu difratograma de raios X (Figura 5.2c) confirma a presença de β e α'' , sendo a fase β majoritária. Para 7,5% de Ta (Figuras 5.1d e 5.2d), houve uma completa retenção desta fase, o que mostra que essa concentração de elemento de liga foi suficiente para reduzir a temperatura de início de formação da martensita (M_i) a um valor abaixo da temperatura ambiente.

Todos os resultados aqui apresentados estão em concordância com àqueles divulgados por SOUZA *et. al.*(2010). Nesse caso, é importante destacar que tais autores também analisaram as ligas Ti-35Nb-5Ta e Ti-35Nb-7,5Ta por microscopia eletrônica de transmissão (MET) e seus resultados mostraram a existência de uma baixa densidade de precipitados da fase ω na matriz β . Isso indica que a fase ω pode estar presente nas amostras deste estudo, em pequena fração de volume, abaixo do detectável por difração de raios X.

5.2. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS SUPERFÍCIES ANODIZADAS

As superfícies das ligas Ti-35Nb-xTa anodizadas a 20V por 1h são apresentadas na Figura 5.3, onde é possível observar que, em todas as amostras, houve a formação de filmes de óxido com topografias variáveis. Ao analisar a superfície anodizada da liga Ti-35Nb (Figura 5.3a), nota-se a existência de marcas de orientação da lixa utilizada na preparação da superfície do substrato, o que indica que a camada existente de Óxido é fina. Com as adições de Ta, principalmente nas concentrações de 5 e 7,5%, as camadas de óxido aparentam ser mais espessas como podem ser observadas nas Figuras 5.3 (b),(c) e (d).

Pesquisas realizadas por KIM *et al.*, (2013) mostram que esse elemento de liga promove a formação de nanotubos de TiO_2 e, em vista disso, uma análise mais criteriosa de suas superfícies foi realizada. Assim, pode-se observar nas imagens apresentadas na parte superior esquerda das Figuras 5.3a-d que não houve formação de camadas nanoestruturadas para nenhuma das ligas com o procedimento adotado. No estudo de KIM *et al.*, (2013), todos as anodizações foram realizados a 10 V por 2 h. Essas diferenças de tensão e de tempo aplicados podem ter sido os principais fatores que não permitiram obter uma camada de óxido com estrutura auto-organizada. Contudo é importante ressaltar que, o foco deste estudo é avaliar o efeito do tratamento de superfície via anodização e suas reais contribuições frente à resistência à corrosão e citotoxicidade das ligas Ti-35Nb-xTa. Assim, a condições ideais para a formação de nanotubos não foram aqui criteriosamente investigadas, uma vez que uma camada de óxido não necessariamente auto-organizada pode já garantir melhorias destas propriedades.

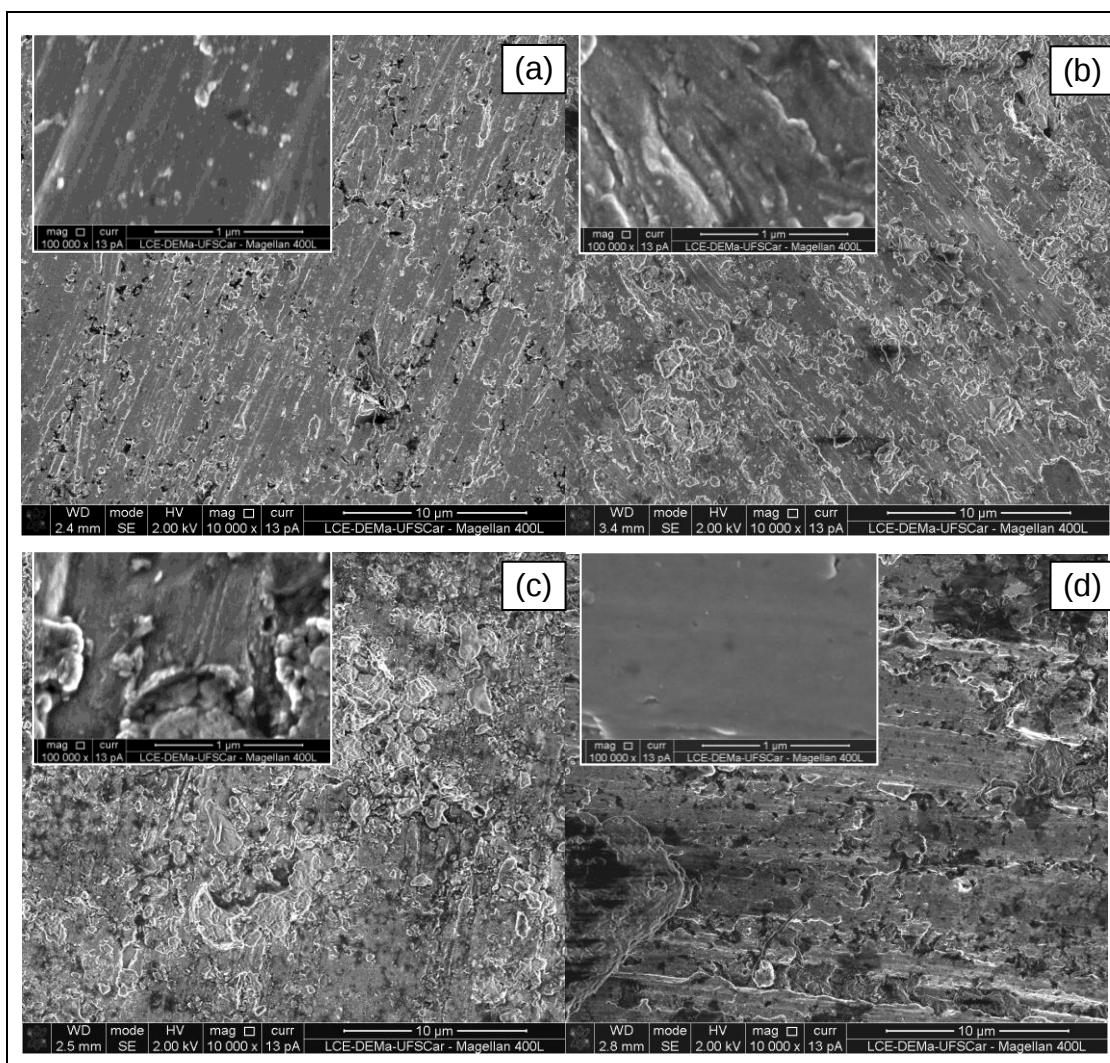


Figura 5.3. Imagens (MEV) com aumento de 10.000 x de amostras anodizadas a 20V por 1h de composições Ti-35Nb (a), Ti-35Nb-2,5Ta (b), Ti-35Nb-5Ta (c). e Ti-35Nb-7,5Ta (d). O detalhe na parte superior esquerda de cada imagem corresponde a uma apiação de 100.000 x.

5.3. ENSAIOS ELETROQUÍMICOS

5.3.1 CURVAS DE POLARIZAÇÃO ANÓDICA

As curvas de polarização das ligas sem tratamento de superfície via anodização são apresentadas na Figura 5.4

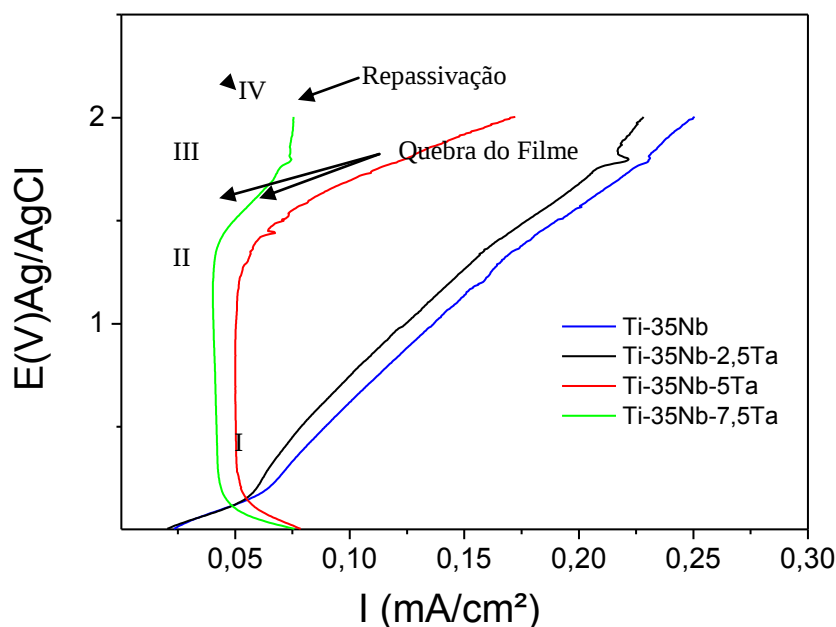


Figura 5.4 Curvas de polarização anódica em meio de SBF para as ligas Ti-35Nb-xTa (x= 0; 2,5; 5; 7,5) antes da anodização.

De acordo com a Figura 5.4, todas as curvas partem do mesmo potencial, mostrando que a presença de tântalo não alterou o potencial de corrosão das ligas, $E_{\text{corr}} = 5,04 \text{ mV}$. No entanto, uma melhora significativa na resistência à corrosão das mesmas é claramente observada.

As ligas com maiores concentrações de Ta (5 e 7,5%) tiveram suas curvas deslocadas para regiões de menores densidades de corrente (região I), o que não foi tão pronunciado para a liga com 2,5% de Ta. Além disso, somente as ligas com 5 e 7,5% de Ta apresentaram comportamento típico de “metal-válvula”, onde um patamar de

corrente é observado pela formação de um óxido aderente e insolúvel com caráter protetor (região II). Sabe-se que o titânio e muitas de suas ligas apresentam esse comportamento, sobretudo em meios ausentes de íons cloretos (JABLOKOV *et al.*, 2017). Entretanto na presença de halogênios, em especial os íons cloretos, um ataque localizado (pite) na superfície do óxido pode ser observado. Assim, com a quebra do óxido protetor a superfície do metal torna-se localmente ativa e conseqüentemente um aumento na densidade de corrente é notado como pode ser observado nas curvas das ligas Ti-35Nb-5Ta e Ti-35Nb-7,5Ta na região III da curva de polarização.

Os potenciais de pite (E_{pite}) é um fator importante na resistência a corrosão de um material. Quanto mais elevado esse potencial, mais estável é o óxido formado e maior a proteção oferecida. As curvas de polarização mostram que as ligas Ti-35Nb-5Ta e Ti-35Nb-7,5Ta apresentam E_{pite} elevados, em torno de 1,25V e 1,40V, respectivamente. Vale ressaltar que um dos maiores problemas das ligas usadas como implantes metálicos é a corrosão por pite, ocasionada pela quebra do filme de óxido.

As ligas Ti-35Nb e Ti-35Nb-2,5Ta mostram claramente que pites são formados em suas superfícies, pois as curvas de polarização destas ligas apresentam um aumento contínuo da densidade de corrente e um patamar não consegue ser mantido. Por outro lado, as ligas com 5% e 7,5% de Ta se comportam de forma interessante com potenciais de pite acima de + 1V. Segundo CHELARIU *et al.*(2017), esses comportamento é bastante desejável, pois os valores de polarização medido no corpos humano são abaixo, + 1V.

É importante ressaltar que as ligas Ti-35Nb e Ti-35Nb-2,5Ta não apresentaram um comportamento passivo, e isto sugere que o tântalo teve um papel importante na formação de um óxido estável no meio estudado.

Outro fato relevante é o fenômeno da repassivação, que somente foi observado na liga com maior concentração de tântalo, região IV. Embora os E_{pite} e a densidade de corrente de passivação I_{pass} para as ligas com 5% e 7,5% de tântalo sejam próximos, 0,050 mA e 0,042 mA, respectivamente, somente a liga com maior concentração deste elemento se repassiva em torno de 1,80 V. Além disso, a liga Ti-35Nb-7,5Ta, também se passivar mais rapidamente, em torno de 60 mV a menos que a liga com 5% de Ta. Mais uma vez o papel deste elemento na estabilidade do óxido protetor é notado, a

repassivação é um comportamento tão importante quanto à passivação, pois o material com esta propriedade exibe um importante papel na resistência à corrosão da liga (TAVARES *et al.*, 2014; GEETHA *et al.*, 2009)

As microestruturas das ligas também influenciam diretamente no comportamento corrosivo das mesmas. Segundo TAVARES *et al.* (2014), a fase β favorece a resistência à corrosão nas ligas de titânio e isto está de acordo com os resultados aqui observados. Como visto anteriormente, somente na concentração de 7,5% de Ta houve uma completa retenção desta fase e foi justamente esta liga que apresentou o melhor desempenho em SBF, seguido da liga com 5% de Ta, onde uma alta fração de volume de β foi também observada juntamente com a fase martensítica α'' .

Por outro lado, as microestruturas das ligas Ti-35Nb e Ti-35Nb-2,5Ta são constituídas majoritariamente pela martensita, a qual é do tipo acicular apresentando placas primárias e secundárias que, dependendo de sua orientação, podem exibir contornos definidos ou não (Figura 5.1a-b). No que se referem aos processos corrosivos, essas regiões de contorno entre placas tornam-se locais propícios ao ataque de íons agressivos, ou seja, essas ligas são mais suscetíveis à corrosão, pois sobre sua superfície várias microcélulas galvânicas são formadas, onde os contornos podem atuar como anodo (HO *et al.*, 1999).

Com relação à Figura 5.5, onde estão representadas as curvas de polarização anódica das ligas após tratamento de superfície, o primeiro fato a ser observado é que o mesmo padrão visto nas ligas sem o tratamento é mantido, isto é, à medida que aumenta a concentração de tântalo, aumenta a resistência à corrosão das ligas. É importante salientar que os valores de densidade de corrente alcançados nas ligas anodizadas são muito menores (cerca de duas ordens de grandeza) do que os valores das densidades de corrente das ligas sem anodizar.

Esses resultados mostram claramente como o processo de anodização contribuiu significativamente para o aumento da resistência à corrosão das ligas, pois quanto menores os valores de corrente mais resistivo é o óxido formado e mais eficiente a proteção contra a corrosão. Vale ressaltar que embora não seja possível uma clara diferenciação entre as camadas de óxidos geradas por cada liga durante a anodização, as imagens obtidas no MEV revelam que, para as ligas contendo tântalo uma camada de

óxido mais espessa é observada, sugerindo um efeito barreira mais eficiente, fato que foi comprovado nas curvas de polarização.

Por fim, pode-se ainda notar que em nenhuma composição as curvas apresentam as regiões distintas observadas para as ligas com maiores teores de Ta, Figura 5.4. Na verdade esse comportamento já era esperado, as regiões I, II e III são regiões típicas nas curvas de polarização anódica de “metais- válvulas” durante a formação e posterior dissolução da camada de óxido protetor. As curvas da Figura 5.5 são referentes as ligas anodizadas, ou seja, a camada de óxido já foi previamente formada, assim os perfis das curvas apontam somente para a etapa da dissolução das camadas no meio estudado caracterizado pelo aumento da densidade de corrente que ocorre mais lentamente na liga Ti-35Nb-7,5Ta.

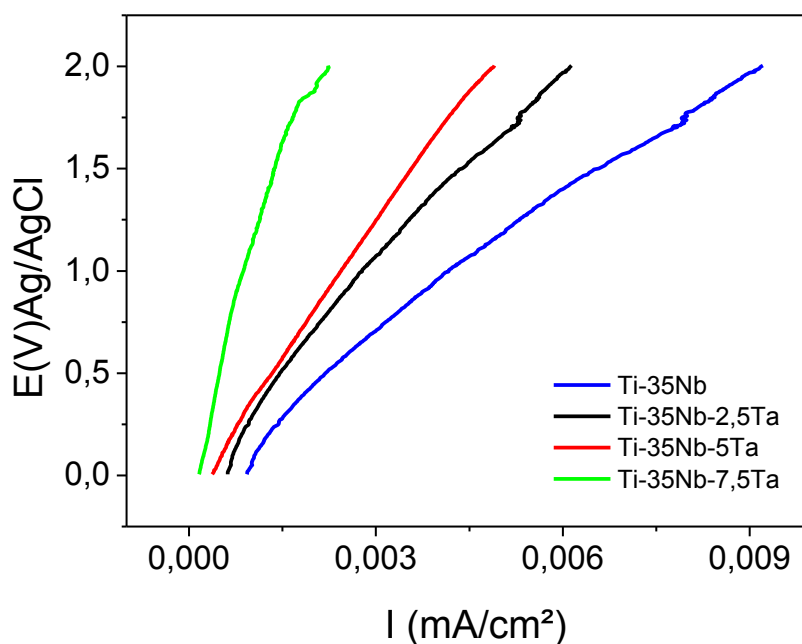


Figura 5.5 Curvas de polarização anódica em meio de SBF para as ligas Ti-35Nb-xTa (x = 0; 2,5; 5; 7,5) anodizadas.

5.3.2 IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

As Figuras 5.6 e 5.7 mostram os diagramas de Nyquist das ligas antes e depois da anodização, respectivamente. Os resultados obtidos corroboram com os observados nas curvas de polarização. Tanto nas ligas sem anodizar quanto nas anodizadas, a presença do tântalo aumenta a resistência de polarização (R_p) do material. A resistência de polarização é uma medida da resistência à corrosão do material em determinado meio, quanto maior o R_p , mais resistente o material (WOLYNEC, 2003).

A Figura 5.6 mostra que a adição de tântalo aumenta o R_p no mínimo quatro vezes em relação à liga sem esse elemento. Quando comparamos os R_p das amostras sem anodizar com as amostras anodizadas (Figura 5.7), observamos valores de R_p muito mais elevados. Este resultado sugere que os filmes de óxidos formados nas amostras anodizadas são mais estáveis e espessos atuando assim como uma barreira mais efetiva contra os íons agressivos. Desta forma, a proteção oferecida ao substrato é mais efetiva e os processos corrosivos são minimizados.

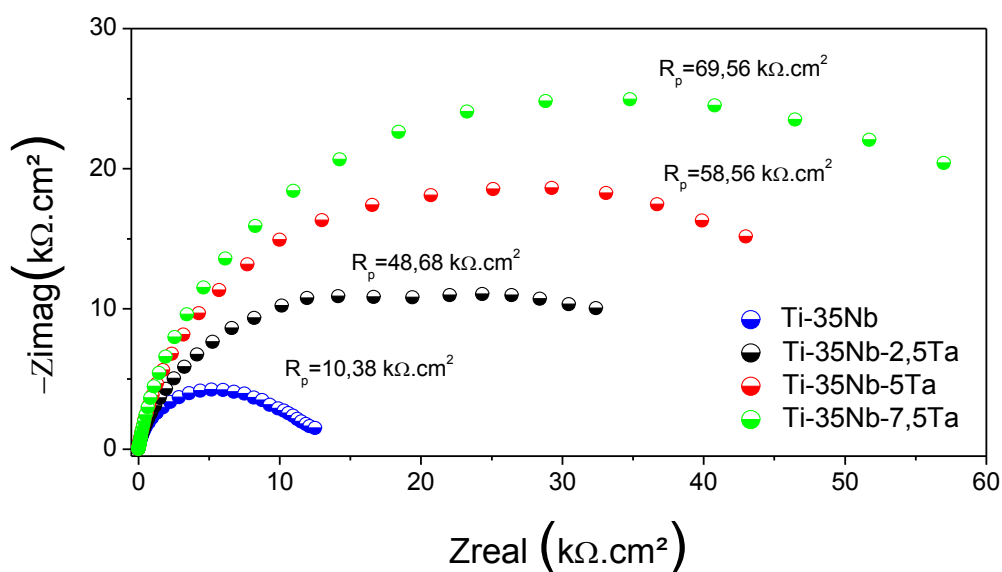


Figura 5.6. Diagrama de Nyquist das ligas Ti-35Nb-xTa ($x = 0; 2,5; 5; 7,5$) sem anodizar.

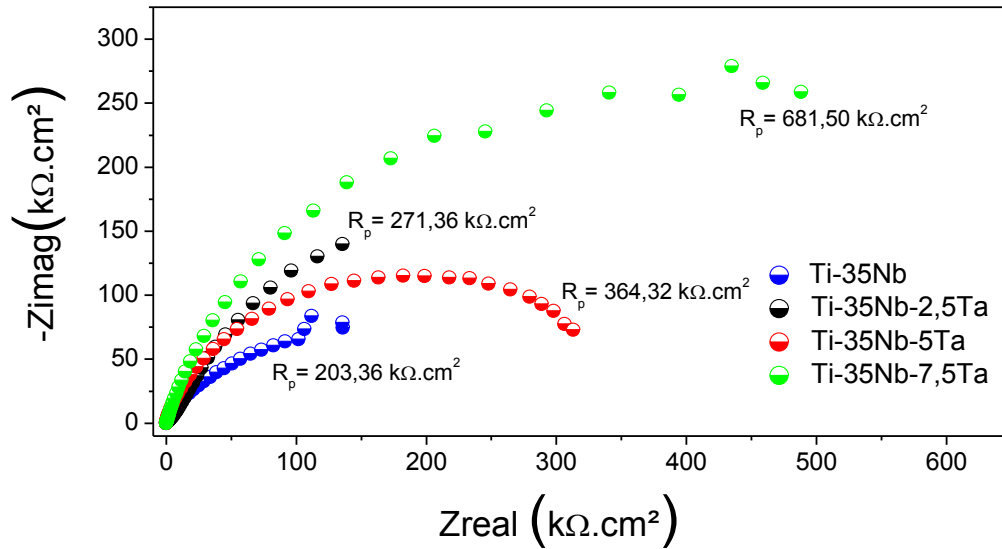


Figura 5.7. Diagrama de Nyquist das ligas Ti-35Nb-xTa ($x = 0; 2,5; 5; 7,5$) anodizadas.

Os valores de capacitância também foram obtidos através das medidas de impedância usando a equação abaixo, onde $F_{\max}$ é a frequência máxima observada no diagrama de Nyquist e o R_p é a resistência à polarização:

$$C = 1/2\pi F_{\max} R_p$$

Outra maneira de avaliar a resistência a corrosão de um revestimento é medindo sua capacitância, pois a mesma é uma forma de monitorar o processo de permeação do eletrólito através de revestimentos de modo geral. A absorção do eletrólito pelo revestimento implica em um aumento da capacitância sugerindo um processo de degradação do mesmo. Assim, se o óxido absorve mais facilmente o eletrólito, sua capacitância irá aumentar e, devido a essa maior facilidade de permeação, o substrato fica mais exposto a íons agressivos favorecendo os processos corrosivos (CASTELA *et al.*, 2002; DEFLORIAN *et al.*, 1999 *et al.*, 2014; MACEDO *et al.*, 2009).

A Figura 5.8 mostra as capacitâncias dos filmes de óxidos nas ligas antes e após a anodização com os seus respectivos desvios padrão. Observa-se que os valores de capacitâncias das ligas sem anodizar são maiores que as ligas anodizadas e os maiores desvios padrão foram encontrados para as ligas com teores de 2,5 e 5,0% de Ta sem anodizar. Esse elevado desvio padrão, sobretudo para a liga de 5% sem anodizar pode estar associada à microestrutura do material. Três pedaços distintos das ligas foram usados na confecção dos eletrodos, assim é possível que uma fase tenha sido mais ou

menos contemplada em um eletrodo do que no outro e isso tenha provocada essa flutuação nos resultados.

Contudo, mais uma vez os resultados apontam a melhoria na resistência à corrosão através do processo de anodização. Os menores valores de capacitância encontrados foram os das ligas com maior percentual de tântalo, tanto nas amostras sem anodizar quanto nas amostras anodizadas sugerindo mais uma vez que a adição do tântalo contribui na resistência à corrosão das ligas de Ti-35Nb, pois o óxido formado é mais estável na presença deste elemento.

No entanto, era esperado que as capacitâncias diminuíssem a medida que o tântalo fosse adicionada nas ligas, este comportamento não foi observado. Com tudo as ligas Ti-35Nb-2,5Ta apresentam valores de capacitância maior que a liga sem tântalo nas duas condições estudadas. Em virtude do elevado desvio padrão não ficou claro se a liga com 5% de tântalo sem anodizar seguiria a mesma tendência desta liga quando anodizada.

De qualquer forma, o conjunto de resultados até aqui apresentado corroboram entre si e indicam que a presença do tântalo na liga Ti-35Nb contribui para elevar a resistência à corrosão em meio de SBF. Isto pode estar associada à natureza do óxido formado, na verdade a mistura de óxido de titânio, nióbio e tântalo, contudo seria necessários uma análise com XPS para compreender melhor a composição dessa camada de óxido protetor como foi realizados nos trabalhos de TAVARES *et al.*(2014) e ZHANG *et al.*(2009).

Segundo JIANG *et al.*(2011), durante a formação da camada de óxido pode ocorre a formação de uma solução sólida entre o elemento de liga majoritário e o elemento em menor quantidade. O elemento em menor proporção é dissolvido no óxido como dopante alterando as propriedades da camada passiva. Um comportamento semelhante pode ter ocorrido nas ligas deste estudo, no entanto precisa ser confirmado.

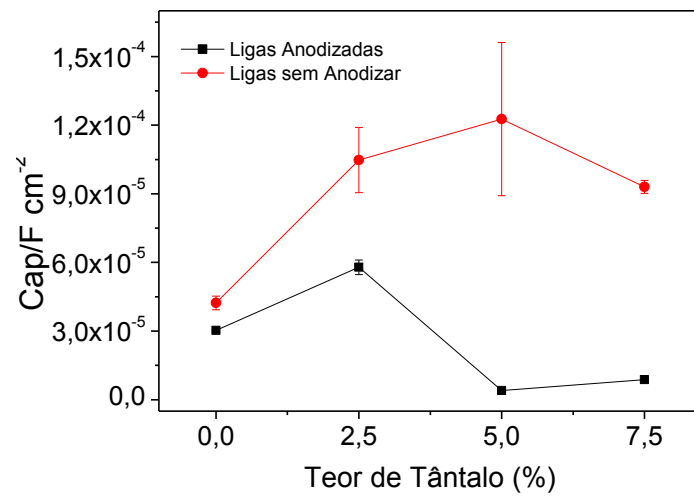


Figura 5.8. Capacitância das ligas Ti-35Nb-xTa, anodizadas e sem anodizar , com seus respectivos desvios padrão.

5.4. ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE

O efeito citotóxico das ligas Ti-35Nb-xTa anodizadas e sem anodizar foi investigado utilizando células osteoblásticas do tipo MC3T3. Na Figura 5.9, os resultados são apresentados como valores médios de absorbância para cada composição nas duas condições. Nesse teste, quanto maior o valor de absorbância maior será a quantidade de células vivas quando expostas a superfície das ligas, o que pode indicar uma resposta negativa em relação à citotoxicidade. As diferenças entre os grupos também foram estatisticamente avaliadas pela análise de variância ANOVA seguida do teste de Turkey para um intervalo de confiança com parâmetro $p < 0,05$.

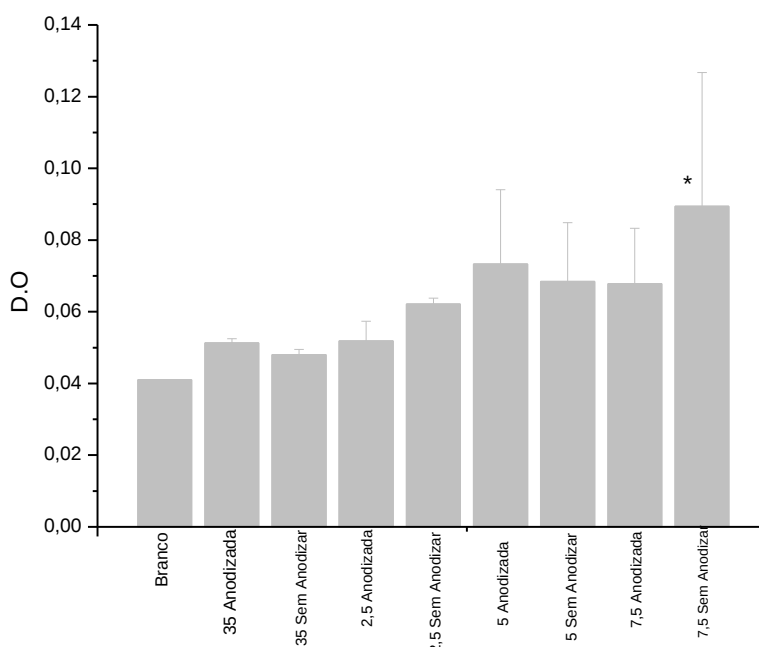


Figura 5.9. Citotoxicidade em células MC3T3 expostas às ligas Ti-35Nb-xTa SA e A por 24h. O * indica que há diferença estatisticamente significativa entre o branco e a amostra 7,5 sem anodizar.

Através desta Figura, pode-se observar uma maior quantidade de célula vivas sobre a superfície das ligas SA e A em relação ao branco (polietileno), no entanto, não há diferença estatisticamente significativa entre elas, exceto para o branco e a liga Ti-35Nb-7,5Ta SA, conferindo esta uma melhor resposta.

Os resultados obtidos mostram que esses materiais são promissores, pois ao primeiro momento estes não apresentaram citotoxicidade, resultado que deve ser

intrínseco a um biomaterial, caso contrário, o material pode levar a morte celular por apoptose. Contudo, ainda é necessária a realização de testes de adesão e proliferação celular para verificar como essas células se comportam na superfície dessas ligas com mais tempo de exposição. Segundo Davies *et al.*(2003), as células ao se espalharem em uma superfície dão preferência as que apresentam topografias diferenciadas, como é o caso das superfícies com óxido formados, por serem porosos e irregulares. Portanto, é esperado que as ligas anodizadas, por possuírem uma camada de óxido, tenham um maior êxito na adesão, proliferação e diferenciação celular em relação às ligas sem modificações de suas superfícies.

6. CONCLUSÕES

- As ligas Ti-35Nb-(0; 2,5; 5)Ta tratadas a 1.000°C e resfriadas em água apresentaram microestruturas constituídas pelas fase α'' e β , sendo esta última majoritariamente presente na liga com adição de 5%. Uma completa retenção da fase β foi somente observada na liga Ti-35Nb-7,5Ta.
- Os ensaios eletroquímicos mostraram que a adição de tântalo na liga Ti-35Nb melhora a resistência à corrosão significativamente, em meio de SBF, sendo a liga de melhor desempenho àquela com adição de 7,5% de Ta.
- O tratamento de superfície por anodização melhorou significativamente a resistência à corrosão das ligas. O mesmo padrão observado nas ligas sem anodizar foi mantido, ou seja, quanto maior a quantidade de tântalo, melhor o desempenho no meio estudado.
- As imagens de MEV sugerem que as ligas com adição de tântalo formaram camadas de óxido mais espessas, o que pode ter contribuído na proteção do substrato pelo mecanismo de barreira, conforme também foi observado nos resultados de impedância e capacitância.
- Nos testes de citotoxicidade, não foi possível observar um comportamento diferenciado entre os grupos de ligas com e sem tratamentos de superfícies em termos de quantidade de células vivas. Pela análise de variância, somente a liga com 7,5% de Ta sem anodizar apresentou a melhor resposta negativa ao teste de citotoxicidade para a linhagem celular investigada.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- b) Estudar a composição e estabilidade das camadas de óxidos formadas nas ligas Ti-35Nb-xTa;
- d) Estudar a biocompatibilidade das ligas Ti-35Nb-xTa com e sem modificação da superfície por anodização.
- e) Investigar criteriosamente as melhores condições para obter camadas de óxidos nanoestruturadas;
- f) Comparar a técnica de anodização nessas ligas com outras técnicas de tratamento de superfície com o objetivo de avaliar qual método produz camadas de óxidos mais eficientes;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHRAFIZADEH, A., & ASHRAFIZADEH, F. 2009, Características estruturais e análise de corrosão de titânio termicamente oxidado. *Journal of Alloys and Compounds* , 480 (2), 849-852.
- BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P., KUDRMAN, J., BŘEZINA, V., PODHORNÁ, B., ČERNOCHOVÁ, P., ... & STRECHA, J. 2009, New titanium β -alloys for dental implantology and their laboratory-based assays of biocompatibility. *Scripta Medica*, 82(2), 76-82.
- BRAMMER, K.S., FRANDSEN, C.J., JIN, S., 2012, “TiO₂ nanotubes for bone regeneration”. *Tendências em biotecnologia* , v. 30 (6), p. 315-322.
- BUCCI, L. 2003, Avaliação da Resistência a Corrosão de Fios Ni-Ti Termo-Ativado e Superelástico em presença de íons fluoreto.” Tese submetida ao Corpo Docente da Coordenação dos Programas de Pós-Graduação de Engenharia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, para obtenção o título de Mestre.
- CHELARIU, R., TRINCA, LC, MUNTEANU, C., BOLAT, G., SUTIMAN, D., MARECI, D., & SOUTO, RM 2017. “Comportamento de corrosão de novas ligas ZrNbTiAl quaternárias em solução fisiológica simulada utilizando técnicas eletroquímicas e métodos de análise de superfície”. *Electrochimica Acta* , 248 , 368-375.
- CIPRIANO, A. F.; MILLER, C., LIU, H., 2014, “Anodic growth and biomedical applications of TiO₂ nanotubes”. *Journal of biomedical nanotechnology*, v. 10, n. 10, p. 2977-3003.
- COLLINGS, E. W. 1984, The physical metallurgy of titanium alloys. American Society for Metals, 1984,, 261.
- CUI, X., KIM, HM, KAWASHITA, M., WANG, L., XIONG, T., KOKUBO, T. E NAKAMURA, T. 2009, Preparação de filmes de titânia bioativos em titânio

metálico através de oxidação anódica. *Materiais dentários* , 25 (1), 80-86.

DAVIES, JE (2003). Compreensão da cicatriz endósea peri-implante. *Revista de educação dentária* , 67 (8), 932-949.

DEFLORIAN, F., FEDRIZZI, L., ROSSI, S., & BONORA, P. L. 1999. "Organic coating capacitance measurement by EIS: ideal and actual trends". *Electrochimica Acta*, 44(24), 4243-4249.

DOBROMYSLOV, A. V.; ELKIN, V. A., 2001.; "Martensitic Transformation and Metastable β -Phase in Binary Titanium Alloys with d-Metals of 4-6 Periods", *ScriptaMaterialia*, v.44, pp. 905-910,.

DONACHIE JR. J.D. ,1988, *Titanium, A Technical Guide*, ASM Int., Metals Park, Ohio

EISENBARTH, E.; VELTEN, D.; MULLER, M.; THULL, R.; BREME, J., 2004, „Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys“, *Biomaterials*. V. 25, p. 5705-5713.

ELIAS, C.N., FERNANDES, D.J., RESENDE, C.R., ROESTEL, J., 2015, "Mechanical properties, surface morphology and stability of a commercially pure modified high strength titanium alloy for dental implants". *Materiais dentários* , v.31 (2), p.1-13.

FAN, J., LI, J., KOU, H., HUA, K., TANG, B. E ZHANG, Y., 2016, "Correlation of microstructure and mechanical properties and optimization properties of a titanium alloy β -7333", *Journal of Alloys and Compounds* , v. 682 , p.517-524.

FAVERANI, L. P. et al., 2012, "Osseointegrated implants : evolution and success", *Journal Salusvita*, v. 30, n. 1, p. 47–58

GAMES, L. A.; SANCHEZ, A. G.; JIMENEZ-PIQUE, E.; SCHREINER, W. H.; CERÉ, S. M.; BALLARRE, J, 2012, "Chemical and mechanical properties of anodized cp-titanium in NH_4 , H_2PO_4 , $4/\text{NH}_4\text{F}$ media for biomedical applications", *Surface and Coatings Technology*, v.23 , p.4791-4798.

GEETHA, M., SINGH, A.K., ASOKAMANIR., 2009, „Ti based biomaterials, the

ultimate choice for orthopedic implants”, A review. *Progress in Materials science*, v. 54, p.397-425.

GIAVARESI, G.; AMBROSIO, L.; BATTISTON, G. A.; CASELLATO, U.; GERBASI, R.; FINIA, M., 2004, “Histomorphometric, ultrastructural and microhardness evaluation of the osseointegration of a nanostructured titanium oxide coating by metal-organic chemical vapour deposition: an in vivo study”, *Biomaterials*, n.25, p. 5583-5591.

GRIGAL, IP, MARKEEV, AM, GUDKOVA, SA, CHERNIKOVA, AG, MITYAEV, AS E ALEKHIN, A.P., 2012, “Correlation between bioactivity and structural properties of titanium dioxide coatings cultured by atomic layer deposition”, *Applied Surface Science* , v.258 (8), p. 3415-3419.

GROISMAN M; VIDIGAL JR GM. 2005,”Tipos de superfícies de implantes. In: Sociedade Brasileira de Periodontologia. *Periodontia e implantodontia - atuação clínica baseada em evidências científicas*”. Belo Horizonte: SOBRAPE; 2005. v. 14, p. 1-14.

HALL, D. J., URBAN, R. M., POURZAL, R., TURNER, T. M., SKIPOR, A. K., & JACOBS, J. J., 2017, “Nanoscale surface modification by anodic oxidation increased bone ingrowth and reduced fibrous tissue in the porous coating of titanium–alloy femoral hip arthroplasty implants”. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, v.105(2), p.283-290.

HO, WF, JU, CP, & LIN, JC;1999. “Estrutura e propriedades das ligas de Ti-Mo binárias”. *Biomateriais* , 20 (22), 2115-2122.

HOLZAPFEL BM, REICHERT JC, SCHANTZ J-T, GBURECK U, RACKWITZ L, NÖTH U, JAKOB F, RUDERT M, GROLL J, HUTMACHER D,W.2012. “How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view”. *Advanced Drug Delivery Reviews* .

HUANG, H. H. 2003, “Effect of fluoride and albumin concentration on the corrosion behavior of Ti–6Al–4V alloy”. *Biomaterials*, 24(2), 275-282.

- HUSSEIN, A. H., GEPREEL, M. A. H., GOUDA, M. K., HEFNAWY, A. M., & KANDIL, S. H., 2016, "Biocompatibility of new Ti–Nb–Ta base alloys", *Materials Science and Engineering*, v.61, p.574-578.
- JABLOKOV, V. R., JABLOKOV, I. R., & WHITE, M. 2017. U.S. Patent No. 9,542,944. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- JINGYAN HUANG, XINCHUN ZHANG, WANGXIANG YAN, ZHIPEI CHEN, XIN TAO SHUAI, ANXUN WANG AND YAN WANG. 2017, "Nanotubular topography enhances the bioactivity of titanium implants. *Nanomedicine: Nanotechnology*", *Biology and Medicine* 13:6, 1913-1923.
- KARAMBAKHSH, A.; AFSHAR, A.; MALEKINEJAD, P., 2012, "Corrosion resistance and color properties of anodized Ti-6Al-4V". *Journal of materials engineering and performance*, v. 21, n. 1, p. 121-127.
- KIM, E. S., JEONG, Y. H., CHOE, H. C., & BRANTLEY, W. A., 2013, "Formation of titanium dioxide nanotubes on Ti–30Nb–xTa alloys by anodizing", *Thin Solid Films*, v.549, p.141-146.
- KNOLL, P. K., SCHAEFFER, L. 2006 "Análise microestrutural da liga de titânio $\alpha+\beta$, Ti-6Al4V, forjada a quente", 17º CBECIMat-Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 2006.
- LAHEURTE, P., EBERHARDT, A., & PHILIPPE, M. J. 2005, "Influence of the microstructure on the pseudoelasticity of a metastable beta titanium alloy". *Materials Science and Engineering: A*, 396(1), 223-230.
- LEE, Y.H.; et al. 2013, "Bone regeneration around N-acetyl cysteine-loaded nanotube titanium dental implant in rat mandible". *Biomaterials*, v. 34, n. 38, p. 10199- 208.
- LI, C.; ZHAN, Y.; JIANG, W., 2012, " β -Type Ti–Mo–Si ternary alloys designed for biomedical applications Chunliu". *Materials and Design*, v. 34, p. 479–482.
- LI, S.J., XU, Q.S., WANG, Z., HOU, W.T., HAO, Y.L., YANG, R., MURR, L.E., 2014, "Influence of the cellular form on the mechanical properties of Ti-6Al-4V meshes manufactured by the electron beam fusion method". *Acta biomaterialia*

,v.10 ,p.4537-4547.

- LINDBERG, F., HEINRICHS, J., ERICSON, F., THOMSEN, P., & ENGQVIST, H. 2008. “Crescimento de hidroxilapatita em substratos de rutilo de um único cristal”. *Biomateriais* , 29(23), 3317-3323.
- LIU, X.2004, “Surface medications of titanium alloys, and related materials for biomedical applications”. *Materials science and Engineering*, v.47, p.49-121.
- LÜTJERING, G., & WILLIAMS, J. C. 2007, “Titanium”. Springer Science & Business Media.
- MACAK, J. M., TSUCHIYA, H., GHICOV, A., YASUDA, K., HAHN, R., BAUER, S., & SCHMUKI, P., 2007, “ TiO₂ nanotubes: self-organized electrochemical formation, properties and applications”. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, v. 11(1), p.3-18.
- MACAK, J.M.; et al. 2007, “Multilayer TiO₂-nanotube formation by two-step anodization”. *Electrochemical and Solid-State Letters*, v. 10, n. 7, p. K28- K31.
- MACEDO, M. C. S. S; MARGARIT, I. C. P.; FRAGATA, F.de L. ; J-B. Jorcin ; N. Pèbère ; 2009 . “Contribution to a better understanding of different behaviour patterns observed with organic coatings evaluated by electrochemical impedance spectroscopy”. *Corrosion Science*, v. 51, p. 1322-1327.
- MANTANI, Y., & TAJIMA, M. 2006, “Phase transformation of quenched α "martensite by aging in Ti-Nb alloys". *Materials Science and Engineering: A*, 438, 315-319.
- MATSUNO, H., YOKOYAMA, A., WATARI, F., UO, M., & KAWASAKI, T, 2001, “ Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium”, *Biomaterials*, v.22(11), p.1253-1262.
- MINAGAR, S.; BERNDT, C. C.; WANG, J.; IVANOVA, E.; WEN, C., 2012, “A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces”. *Acta biomaterialia*, v.8, p. 2875-2888.

- MIRANDA, R. M. N., 2013, "Study of Ergonomic Needs After Prosthesis Hip Replacement Surgery".
- MOHAMMED, M. T.; KHAN, Z. A.; SIDDIQUEE, A. N., 2014, "Beta titanium alloy with the lowest elastic modulus for biomedical applications a review", International Journal of Chemical, v. 8, n. 8, p. 822–827.
- MURRAY, G.T. 1997, "Hand book of Materials Selection for Engineering Applications".
- NASAB, M.; B, HASSAN, M.; et al, 2010, "Metallic biomaterials of knee and hip- A review", Trends Biomater. Artif. Organs, n.24, p.69-82.
- NAVARRO, M.; MICHIARDI, A.; CASTAÑO, O.; PLANELL, J. A. 2008. Biomaterials in orthopaedics. J. R. Soc. Interface, [S. l.], v 5, p. 1137-1158.
- NIINOMI, M., KURODA, D., FUKUNAGA, K., MORINAGA, M., KATO, Y., YASHIRO, T., SUZUKI, A. 1999, "Corrosion wear fracture of new beta type biomedical titanium alloy". Materials Science and Engineering A 263, p. 193-199.
- NIKOLOPOULOU, F. (2006), "Saliva and dental implants". Implant dentistry, 15(4), 372-376.
- OH, S.; JIN, S., 2006, "Titanium oxide nanotubes with controlled morphology for enhanced bone growth". Materials Science and Engineering: C, v. 26, n. 8, p. 1301-6
- OVET, Y.; GAL, J., Y.; CHEMLA, F. T. 2001, "Influence of pH and fluoride concentration on titanium passivating layer: stability of titanium dioxide." Talanta 53, 105-1063.
- POPA, M. V.; DEMETRESCU, I.; VASILESCU, E.; DROB, P.; LOPEZ, A.S.; ROSCA, J. M.; VASILESCU, C.; IONITA, D. 2004, "Corrosion susceptibility of implant material Ti-xAl-yV and Ti-6Al-4F in artificial extra-cellular fluids." Electrochimica Acta 49, p 2113- 2121, 2004.
- POURBAIX, M. 1987, "Lecciones de Corrosion Electroquímica". Una publicación del

Celbecor, Bruselas, traduzido pelo Instituto Espan ol de corrosion y proteccion.

RECLARU, L.; MEYER, J.M. 1998, "Effects on titanium and other alloys in dentistry"
Biomaterias 19, p 85-92.

RIGO, E.C.S. et al. 1999, "Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita". Revista
de Engenharia Biom dica , v.1521-1529, 1999.

ROOT, N. V. et al., 2017, "Effect of the conditions of anodizing on the morphology of
nanotitania", RussianJournalofPhysicalChemistry A, v. 91, n. 2, p. 213-216.

SHABALOVSKAYA, S. 2002,"Surface, corrosionandbiocompatibilityaspectsofnitinol
as na implant material."- Bio-MedicalMaterialsandengineering, n 12 , p 69-109.

SHARMA, A. K. 1992, "Anodizing Titanium for Space Application". Thin Solid Films,
v. 208, pp.48- 54.

SILVA, J. C. D. 2013, "Estudo comparativo de superfícies de titânio utilizadas em
implantes".

SIMUNOVIC, N., DEVEREAUX, P. J., SPRAGUE, S., GUYATT, G. H.,
SCHEMITSCH, E., DEBEER, J., & BHANDARI, M. 2010, "Effect of early
surgery after hip fracture on mortality and complications: systematic review and
meta-analysis". Canadian Medical Association Journal, 182(15), 1609-1616.

SIRIVISOOT, S., YAO, C., XIAO, X., SHELDON, B. W., & WEBSTER, T. J. 2007,"
Greater osteoblast functions on multiwalled carbon nanotubes grown from
anodized nanotubular titanium for orthopedic
applications". Nanotechnology, 18(36), 365102.

SITTIG, C., TEXTOR, M., SPENCER, N.D., WIELAND, M. VALLOTTON, P.-H.
1999, "Surface Characterization of Implants Materials c.p. Ti, Ti-6Al-7Nb and Ti-
6Al-4V with Different Pretreatments". Journal Material Science: Materials in
Medicine, v10, pp.35-46,.

SOBIESZCZYK, S. 2010, "Surface modifications of Ti and its alloys". Advances in
Materials Sciences, 10(1), 29-42.

- SOUZA, S. A. S. A, 2008,“ Transformações de Fases e Correlações Microestrutura/ Propriedades de Ligas Biocompatíveis dos Sistemas Ti-Nb e Ti-Nb-Ta””, Tese de D.Sc, FEM/Unicamp, Campinas, SP, Brasil.
- SOUZA, S. A.; MANICARDI, R. B.; FERRANDINI, P. L. ; AFONSO, C. R. ; RAMIREZ, A. J. ; CARAM, R., 2010, “Effect of the Addition of Ta on Microstructure and Properties of Ti-Nb Alloys””, Journal of Alloys and Compounds, v. 504, p. 330-340.
- SUL YT, JOHANSSON CB, JEONG Y, WENNERBERG A, ALBREKTSSON T. 2002, “Resonance frequency and removal torque analysis of implants with turned and anodized surface oxides”. Clin Oral Implants Res.;13(3):252-9.
- TANG, Q., HUANG, Y., CHENG, H., LIAO, X., LANGDON, T. G., & DAI, P. 2016. “The effect of grain size on the annealing-induced phase transformation in an Al0.3CoCrFeNi high entropy alloy”. Materials & Design, 105, 381-385.
- TAVARES, A. M. G., 2014, “Estudo das transformações de fases ,propriedades mecânicas e de resistência à corrosão em ligas dos sistemas Ti-Nb e Ti-Nb-Si para aplicações biomédicas”. p. 156. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE
- THOMA, DS, JONES, AA, DARD, M., GRIZE, L., OBRECHT, M., & COCHRAN, DL 2011, “Integração tecidual de um novo implante dentário titânio-zircônio: estudo comparativo histológico e radiográfico no canino”. Revista de periodontologia , 82 (10), 1453-1461.
- TOSHIKI, K.,SANAMI, N., et al ., 2016, “Fabrication of ideally ordered anodic porous TiO₂ by anodization of pretextured two-layered metals”, Electrochemistry Communications, v. 72, p.100-103.
- VELTEN, D., BIEHL, V., AUBERTIN, F., VALESKE, B., POSSART, W., & BREME, J. 2002, “Preparação de camadas de TiO₂ em cp-Ti e Ti6Al4V por oxidação térmica e anódica e por técnicas de revestimento sol-gel e sua caracterização”. Journal of Biomedical Materials Research Part A , 59 (1), 18-28.

- WANG, L., LU, W., QIN, J., ZHANG, F., & ZHANG, D., 2008, “Microstructure and mechanical properties of cold-rolled TiNbTaZr biomedical β titanium alloy”, *Materials Science and Engineering*, v. 490(1), p.421-426.
- WENNERBERG, A., ALBREKTSSON, T., JOHANSSON, C., & ANDERSSON, B. 1996, “Estudo experimental de implantes em forma de parafusos girados e com aparência de grão com ênfase especial nos efeitos do material de jateamento e topografia de superfície. *Biomateriais* , 17 (1), 15-22.
- WILLIAMS, D. F. 1987, “Definitions in Biomaterials”, Elsevier: Amsterdam, 1987.
- WU, SHUILIN et al., 2013, “Surface nano-architectures and their effects on the mechanical properties and corrosion behavior of Ti-based orthopedic implants”, *Surface and Coatings Technology*, v. 233, p. 13-26,.
- YEN, C. Y., LIN, Y. F., HUNG, C. H., TSENG, Y. H., MA, C. C. M., CHANG, M. C., & SHAO, H. 2008, “The effects of synthesis procedures on the morphology and photocatalytic activity of multi-walled carbon nanotubes/TiO₂ nanocomposites”. *Nanotechnology*, 19(4), 045604.
- YU, WEIQIANG et al., 2015, “Mechanisms of stem cell osteogenic differentiation on TiO₂ nanotubes”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 136, p. 779-785.
- ZHANG, W., ZHU, Z., CHENG, C., Y., 2009, “Si doping effects on the photocatalytic activity of TiO₂ nanotubes film prepared by na anodization process”, *Scripta Materialia*, v.60, pp. 543-546
- ZHAO, J.; et al. , 2007, “Crystal phase transition and properties of titanium oxide nanotube arrays prepared by anodization”. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 434-435, p. 792-5
- ZHOU, Y.L.; NIINOMI, M. 2009. “Ti–25Ta alloy with the best mechanical compatibility in Ti–Ta alloys for biomedical applications”. *Materials Science and Engineering C*, v.29, n. 3, p.1061–1065.